



Naturalis

Repositorio Institucional
<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar>

Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo



Tipificación de marcadores uniparentales en poblaciones mestizas de Argentina

Jurado Medina, Laura Smeldy

Doctor en Ciencias Naturales

Dirección: Bailliet, Graciela

Co-dirección: Bravi,

Facultad de Ciencias Naturales y Museo
2015

Acceso en:

<http://naturalis.fcnym.unlp.edu.ar/id/20160307001440>



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional



Naturalis

Repositorio Institucional
FCNyM - UNLP

Tipificación de marcadores uniparentales en poblaciones mestizas de Argentina

**LAURA S. JURADO MEDINA
2015**

Directora: Dra. Graciela Bailliet

Codirector: Dr. Claudio M. Bravi



**Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo**

TIPIFICACIÓN DE MARCADORES UNIPARENTALES EN POBLACIONES MESTIZAS DE ARGENTINA

Laura Smeldy Jurado Medina

Directora: Dra. Graciela Bailliet

Codirector: Dr. Claudio M. Bravi



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo

2015

A mi familia

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a mi directora Graciela Bailliet, porque no existe otra forma de que yo haya podido culminar esta etapa, si no hubiese sido porque ella acepto guiar y dirigir este trabajo. Gracias infinitas Grace por abrirme las puertas del laboratorio, por formarme, por enseñarme, porque más allá de su labor de maestra me brindo su amistad sincera, por entender mis tiempos, mis modos, mis mañas, por malcriarme tanto pero tanto, sobre todo mil gracias por tanta paciencia, espero no haber agotado por completo el stock. Un monumento a la paciencia.

A mi codirector Claudio Bravi por la amistad y la confianza, por siempre tratar de ayudarme con todo, desde temas laborales, académicos, inmobiliarios y de transporte.

A todo el grupo de GenPob porque es realmente un equipo, a Rita que es un sol, desde el primer día con una enorme sonrisa a disposición de lo que necesité, a Mariela por los mates y la buena onda siempre, a Julieta y Marisol que aparte de compartir la carrera del doctorado y una amistad, fuimos compañeras de campaña (gracias, por todo lo que hay que vivir en las campañas). A Leticia porque la más linda forma de aprender es enseñando. A Claudio, Virginia, Josefina y Marina por el trabajo en los muestreos, en los cuales se colectaron las muestras de mi tesis. A Jóse por su fe ciega en mí y la ayuda con parte de los análisis de esta tesis, a Viki mil millones de gracias por los cursos intensivos “on line”, por leer y releer mi tesis, por los fines de semana sacrificados ayudándome a explicar y entender las místicas de la genética de poblaciones.

A los directivos del IMBICE por permitir el desarrollo de este proyecto y a todo el personal por hacer ameno el día a día, a Vero y a Flor por escuchar mis mil historias y por los consejos, a todos los que de una u otra forma aportaron a mi crecimiento académico y personal, a Bamba, Betty, Jorge, Hebe, Jesica y por supuesto a todos los becarios que compartimos además del trabajo: las buenas, las malas y las peores. A Lu, Guille y Fran por el apoyo, por la confianza que depositaron en mí y por su amistad, también a Ana, Belén, Agus, Nati, Spring y Silvana, fueron muchas historias y los momentos compartidos. También a los chiquitos que llegaron al final para ponerle color y alegría a mis días de escritura: Roman, Andrea y Valen que bueno que llegaran.

A quienes se convirtieron en la familia que uno elige, porque sin ellos el proceso de adaptación hubiese sido mucho más difícil, a quienes no solo me abrieron las puertas de

su amistad sincera sino también las puertas de sus familias y me volvieron parte, literalmente. A Javier que es mi hermano mayor con los derechos y sobre todo con los deberes que confiere el título, a Juli y todos los Sánchez por brindarme ese calor de hogar que tanta falta hace cuando se está lejos, gracias por todas las veces que dicen que soy la quinta Sánchez, a Mari y Leo que bancaron tantas in bancables y estuvieron siempre respaldando cada decisión que tomé por más disparatada que fuere y a Bel porque aparte del cariño y la amistad, siempre da alivio encontrar alguien con los mismos desórdenes mentales, porque sabes que nunca estas solo.

A Maru y Ricardo por los años de compañía y respaldo, porque la convivencia es la parte más difícil de la vida y de no ser por ellos habría girado por el mundo quien sabe dónde.

Al grupo de escaladores que llego para recordarme la vida fuera de la ciencia, en especial a Pablo que también se volvió mi familia y soportó los brotes psicóticos que produce una tesis doctoral y a Ceci que pese a la distancia siempre ha estado presente.

A toda la gente que se cruzó en el camino y se quedó en el corazón porque hicieron la diferencia, a Laura Parolin que fue quien me recibió con generosidad el primer día que puse un pie en estas tierras y con eso marcó el inicio de lo que sería una zaga de mil eventos afortunados, a Maia, Coni, Emma, Darío, Dipi, Rodrigo, Angelina, Peter y Patricio.

Al profesor Guillermo Barreto, por apoyarme y respaldar el proyecto de venirme a la Argentina y a Yamid por introducirme en el campo de la genética de poblaciones y por ayudar en mi formación.

Espero no olvidarme de nadie porque fueron muchos los que participaron en este proyecto. Para todos mis más sentidos agradecimientos.

A la Universidad Nacional de La Plata por mantener una educación pública y gratuita.

Finalmente a toda la progenie de dos cromosomas "Y": Alfredo Medina y Jesús Jurado...

MI FAMILIA, porque son mi motor para moverme cada día, por entender que este lejos, por creer en mí, por su apoyo incondicional, por su amor infinito, por estar siempre.

INDICE

Agradecimientos.....	i
Resumen.....	vi
Abstrac.....	vii
1. Introducción.....	8
1.1 Naturaleza del cromosoma Y.....	9
1.2 El papel de los marcadores moleculares en la historia de las poblaciones humanas.....	10
1.2.1 Marcadores bialélicos.....	10
1.2.1.1 Construcción de la filogenia a partir de los SNPs.....	10
1.2.1.2 Filogeografía: Origen de los linajes.....	13
1.2.2 Microsatélites: buscando variabilidad dentro de los linajes.....	17
1.3 El cromosoma Y americano.....	18
1.4 Área geográfica.....	21
1.4.1 Noroeste y Cuyo argentino.....	21
1.4.2 Cultura y sociedad de las poblaciones argentinas.....	23
2. Materiales y Métodos	27
2.1 Muestreo y consideraciones éticas.....	27
2.2 Extracción de ADN.....	29
2.3 Tipificación de haplogrupos del Cromosoma Y.....	29
2.3.1 Diseño de los cebadores alelo-específicos	29
2.3.2 Amplificación de marcadores bialélicos del cromosoma Y.....	32
2.3.3 Polimorfismos de longitud de los productos de amplificación (APLP).....	32
2.3.4 Estandarización técnica de amplificación alelo-especifica en múltiplex.....	35
2.4 Secuenciación.....	36

2.5 Alineamiento.....	41
2.6 Diferenciación de haplotipos.....	41
2.7 Métodos de análisis.....	42
3. Resultados.....	46
3.1 Frecuencia de los haplogrupos del cromosoma Y.....	46
3.1.1 Distribución y frecuencia de los linajes	48
3.1.1.1 Haplogrupo E.....	48
3.1.1.2 Para-grupo K (xQR)	49
3.1.1.3 Para-grupo F	51
3.1.1.4 Haplogrupo R.....	52
3.1.1.5 Haplogrupo Q.....	54
3.2 Secuenciación.....	56
3.3 Estructura genética encontrada a partir de frecuencias de haplogrupos	58
3.4 Distancias genéticas encontradas a partir de la frecuencia de los haplogrupos ...	59
3.5 Haplotipos de microsatélites en linajes paternos nativos americanos.....	60
4. Discusión.....	64
Conclusiones.....	76
REFERENCIAS.....	78
Anexo 1: Aprobación comités de ética:	92
Anexo 2: Consentimiento Informado.....	96
Anexo 3: Encuesta genealógica.....	98
Anexo 4: Oligonucleótidos empleados para el método de caracterización por APLP, agregados por grupos de múltiplex. En minúscula se indican bases y agregados 5' no complementarios.....	100

Anexo 5: Análisis de Escalamiento Multidimensional (MDS). Calculado a partir de las frecuencias obtenidas con los haplogrupos.....	102
Anexo 6: Haplotipos del cromosoma Y encontrados de las poblaciones estudiadas....	103
Anexo 7: Barreras genéticas identificadas con el programa Barrier 2.2. Considerando la localidad de Chepes.	108
Anexo 8: Distribución Mismatch del linaje Q1a2a1a1.....	109
Anexo 9: Distribución Mismatch del linaje Q1a2a1b.....	110

Resumen

Octavio Paz, escritor del siglo XX y premio Nobel de Literatura, dijo una vez en tono de broma: *“los mexicanos descienden de los aztecas, los peruanos de los incas y los argentinos... de los barcos”*, esta frase, acuñada para hacer hincapié en el fuerte impacto que ha tenido inmigración en Argentina da una visión del grado de mestizaje que podemos encontrar en el país. Para poder comprender mejor la dinámica de las poblaciones actuales, cuál es su nivel de diversidad, si existe algún patrón de relación entre las distancias genéticas y las geográficas y si hay diferencias entre las poblaciones de las distintas regiones del país, se emplean herramientas moleculares que combinadas con los datos antropológicos, arqueológicos y los registros demográficos, dan respuesta a varias de estas preguntas. En el presente trabajo se emplearon marcadores moleculares específicamente del cromosoma Y, esta molécula por sus particularidades de herencia patrilineal y por no presentar recombinación, es un instrumento clave, cuando se buscan respuestas históricas partiendo de la biología y particularmente la reconstrucción de la historia por vía paterna. Con el fin de tener una visión general del estado actual de la diversidad de las poblaciones argentinas, se analizaron los cromosomas Y de 15 localidades provenientes de la región del Noroeste y Cuyo, encontrando que en la mayoría de las localidades, los linajes más frecuentes son de origen extra continental, obteniendo los picos más altos en las poblaciones de la región cuyana. Estos linajes se han distribuido por toda la región sosteniendo un flujo de genes entre las localidades. La llegada de los colonizadores europeos y los inmigrantes ultramarinos entre finales del siglo XIX y principios del XX, probablemente han generado un patrón de uniformidad que tiende a ocultar los rastros de diferenciación que pudieron existir en épocas pre coloniales. Cuando profundizamos en los linajes propios de nativos americanos se evidencia también una alta diversidad, encontrando sub linajes nativos de baja frecuencia y dentro del sub linaje mayoritario (QM3) observamos una separación regional que cuenta la historia de una migración intra-continental diferencial para las localidades analizadas.

Abstrac

Octavio Paz, a writer of the twentieth century and literature Nobel Prize, once said joking: "Mexicans descended from the Aztecs, the Peruvians descended from the Incas and Argentines from the boats..." This sentence, makes refer to the strong impact that immigration has had in Argentina and it provides an overview of how is the mixture that we can found in the country. With the objet to understand the dynamics of the present populations, their diversity level, if they have any pattern of relationship between genetic and geographical distances, and if they show differences between the populations from different regions, molecular tools are used that combined with anthropological, archaeological and demographic data records, provide answers to several of these questions. In this work we used a molecular markers specifically of the Y chromosome, this molecule has some peculiarities like patrilineal inheritance and not to submit recombination that make it a very usefull instrument, when we are trying answer historical topics basis of biology and particularly the reconstruction of the history in paternal way. With the object to have an overview of the present state of diversity of Argentine populations we analyzed Y chromosomes from 15 localities from the Northwest and Cuyo regions, finding that in most locations, the most common lineages were extra continental origin, obtaining the highest peaks in the populations from the Cuyo region. These lineages have been distributed throughout the region holding a gene flow between locations. The arrival of European colonists and the overseas immigrants between the late nineteenth and early twentieth centuries maybe created a uniform pattern that hide the sign of differentiation that could exist in pre-colonial times. When we analyzed into the Native American lineages also found high diversity, finding sub native lineages with low frequency and within the sub majority lineage (QM3) observed a regional separation that reveal the history of a differential intra-continental migration to the towns analyzed.

1. Introducción

En Argentina, así como en el resto del continente, las poblaciones humanas actuales se han formado bajo la presión de diferentes procesos. Fenómenos como reducción en el tamaño debido a las migraciones forzadas en algunos casos generaron barreras, haciendo que las poblaciones se diferenciaron y en otros casos favorecieron el flujo de genes entre los grupos, modificando en ambos casos la estructura genética. Estos fenómenos se vinculan a tres eventos puntuales: primero las migraciones desde Asia hace aproximadamente 15,000 años (Reich *et al.* 2012), un segundo evento más reciente (hace más de cinco siglos) la colonización europea (Schurr y Sherry 2004) y por ultimo un suceso que particularmente en Argentina tuvo gran impacto: las oleadas migratorias desde Europa principalmente de Italia y España, entre 1885 y 1950 (Lorandi 1988). Para entender mejor estos procesos y la historia de los pobladores actuales del país se han desarrollado diferentes herramientas moleculares que permiten hacer un rastreo de ancestros remotos (Bailliet *et al.* 2001).

Como producto de varios estudios enfocados en los linajes paternos en las diferentes regiones del país, se ha determinado que en las localidades del noroeste argentino (NOA) existe una mayor contribución autóctona al “pool” génico de los linajes paternos en comparación con las demás regiones del país, (García *et al.* 2008; Ramallo *et al.* 2009, Avena *et al.* 2010; Bailliet *et al.* 2011; Parolin *et al.* 2012; Corach *et al.* 2012). Con base en lo anterior y teniendo en cuenta la historia de esta región, el presente trabajo propone estudiar y comparar la diversidad y estructura genética de las poblaciones del NOA y de la región de Cuyo, a partir del uso de marcadores moleculares específicos del cromosoma Y. Estas herramientas permiten comprender diferentes fenómenos antropológicos tales como el mestizaje entre las poblaciones originarias y las europeas a partir del siglo XVI, las distintas preferencias de los colonizadores e inmigrantes por ocupar ciertas regiones de acuerdo a su origen, el grado de diversidad actual de los linajes y la correlación entre distancias genéticas y distancias geográficas. En definitiva, conocer por un lado la historia de las poblaciones argentinas del noroeste y la región de Cuyo a partir de datos reportados en la literatura y por el otro, el efecto de dichos procesos sobre su constitución genética actual.

1.1 Naturaleza del cromosoma Y

Los cromosomas sexuales (X e Y) en mamíferos evolucionaron a partir de autosomas aproximadamente hace 300 millones de años (Lahn y Page 1999), solo el 3% de los genes ancestrales sobreviven en el cromosoma Y (Skaletsky *et al.* 2003; Bellott *et al.* 2010) mientras que en el cromosoma X se mantienen el 98% de los mismos (Muller *et al.* 2013). Como es evidente, el cromosoma Y tiende a perder información en el proceso evolutivo. Sin embargo, ésta pérdida se detuvo hace unos 25 millones de años, conservando un bloque de genes ancestrales (Hughes *et al.* 2005; Hughes *et al.* 2010; Hughes *et al.* 2012). El gen encargado de la determinación sexual SRY (por sus siglas en inglés “Sex-determining Region of the Y-chromosome”) junto con el RBMY (por sus siglas en inglés “RNA binding motif Y Chromosome”), hacen parte de este grupo altamente conservado que se encuentran en mamíferos, placentarios y marsupiales (Bellott *et al.* 2014).

Recientes estudios comparativos entre las secuencias de especies filogenéticamente cercanas a los humanos como chimpancé y mono Rhesus, revelaron que en 25 millones de años tan solo se ha perdido un gen ancestral entre estas tres especies (Cortez *et al.* 2014). Se encontró también que los genes en la región recombinante con el cromosoma X están involucrados en procesos regulatorios, como transcripción e inicio de la traducción (Bellott *et al.* 2014; Cortez *et al.* 2014). Los estudios específicos de los cromosomas sexuales en mamíferos han demostrado como a partir de autosomas, por procesos de fusión cromosómica e inversiones, se formaron cuatro estratos diferenciados que definen a los cromosomas sexuales (Lahn y Page 1999; Skaletsky *et al.* 2003; Bellott *et al.* 2014). Como resultado de los cambios de configuración, los genes que son de importancia para el éxito reproductivo han variado, pero sólo entre miembros de un mismo grupo de ligamiento. Es así como la selección natural opera eficientemente para conservar los genes ligados al cromosoma Y en los linajes humanos, dado su papel especializado en la formación testicular y la espermatogénesis (Bellott *et al.* 2010; Cortez *et al.* 2014).

En humanos, el cromosoma Y presenta dos segmentos pseudoautosómicos que se recombinan con el X, estos comprenden menos de 3 Mb de su longitud total de 60 Mb. El resto del cromosoma no recombina y esta región no recombinante ha ido acumulando mutaciones a lo largo del tiempo (Tilford *et al.* 2001; López y Jones 2006). El

cromosoma Y tiene una tasa mutacional intermedia entre la de los autosomas y el cromosoma X, su herencia es patrilineal exclusiva y su bajo tamaño efectivo, $\frac{1}{4}$ en relación a los autosomas y $\frac{1}{3}$ en relación al cromosoma X, lo hace particularmente susceptible a los efectos de la deriva genética (Jobling y Smith, 2003).

La región no recombinante del cromosoma Y humano comprende el 95 % del cromosoma (Tilford *et al.* 2001). Esta ausencia de recombinación hace que, los haplogrupos (grupos monofilético de haplotipos) y haplotipos (conjunto de polimorfismos ligados) pasen intactos de generación en generación. El cambio se produce exclusivamente por mutación, por lo que es posible mantener un registro de su historia (Jobling y Tyler-Smith 2003).

1.2 El papel de los marcadores moleculares en la historia de las poblaciones humanas

1.2.1 Marcadores bialélicos

Entre los marcadores más usados para estudios poblacionales se encuentran los marcadores bialélicos, son cambios en una sola base de la secuencia de nucleótidos (SNP por sus siglas en inglés “*Single Nucleotide Polymorphism*”). En el cromosoma Y, estos marcadores presentan una tasa mutacional por base por generación de 2×10^{-8} (≈ 1 mutación cada 25 generaciones) (Gusmao *et al.* 2005), haciéndolos idóneos para estudios poblacionales, ya que es posible detectar mutaciones que ocurrieron en tiempos remotos (cientos a miles de años) y definir los haplogrupos presentes en las poblaciones (Underhill *et al.* 2000, Underhill *et al.* 2001). En los SNPs los procesos como la deriva génica tienen mayor efecto, acelerando la diferenciación entre las poblaciones. Con la información que nos proveen estos marcadores, se pueden reconstruir filogenias y emplearlas en investigaciones antropológicas.

1.2.1.1 Construcción de la filogenia a partir de los SNPs.

La filogenia permite determinar la historia evolutiva de los organismos, en este caso la historia de los linajes paternos, desde el primer cromosoma Y (“el Adán de los linajes paternos”) hasta los pobladores actuales en el mundo. La reconstrucción de la filogenia del cromosoma Y trata de inferir las relaciones de parentesco, ancestría y descendencia

de las poblaciones. Estas relaciones genéticas han sido estudiadas desde mediados de 1980 mediante polimorfismos de la región no recombinante del cromosoma Y (Casanova *et al.* 1985; Underhill *et al.* 1996; Jobling y Tyler-Smith-Smith 2000, Y Chromosome Consortium (YCC) 2002), lo que ha permitido conocer mejor la secuencia de cambios que se han generado a través de la historia en cada linaje. La comparación de este árbol filogenético con descubrimientos arqueológicos ha permitido inferir rutas migratorias de los primeros pobladores americanos y su dispersión a lo largo del continente (Tarazona-Santos *et al.* 2001; Reich *et al.* 2012).

En el año 2008, a partir de 600 SNPs, Karafet y su grupo de investigación llevaron a cabo una revisión de la filogenia del cromosoma Y, reconfiguraron algunos linajes y re-denominaron otros. Partiendo de esta filogenia de referencia e implementando nuevas tecnologías de secuenciación (NGS por sus siglas en inglés “*next.generation sequencing*”) en el año 2014, el grupo de investigación de Mannis van Oven, propuso una nueva filogenia reducida y concisa, con el fin de optimizar la capacidad de resolución y de esta manera presentar un nuevo estándar de nomenclatura para los haplogrupos del cromosoma Y (Figura 1).



1.2.1.2 Filogeografía: Origen de los linajes

Junto con las diferentes reconfiguraciones filogenéticas de los haplogrupos del cromosoma Y, también se han hecho estimaciones de la antigüedad de los clados más basales partiendo de las mutaciones acumuladas en cada uno de ellos, cada grupo de investigación ha empleado diferentes modelos y las estimaciones han presentado rangos similares de variación temporal (Tabla 1).

Tabla 1. Tiempo al ancestro común más reciente (TMRCA por las siglas en ingles “time to the most recent common ancestor”).

Clados	TMRCA \pm SD Hammer y Zegura 2002	TMRCA \pm SD Karafet et al. 2008	TMRCA Hallast et al. 2015
B			45.600
C			39.400
CT	68.500 \pm 6000	70.000	
CF		68.900 (64.600-69.900)	
CR			47.900
DE	38.300 (\pm 7800)	65.000 (59.100-68.300)	48.100
E	17.400 (\pm 3200)	52.500 (44.600-58.900)	37.900
F	50.300 (\pm 6500)	48.000 (38.700-55.700)	
FR			35.200
G			23.100
H			27.400
IJ		38.500 (30.500-46.200)	31.000
I	5.950 (\pm 2450)	22.200 (15.300-30.000)	20.600
L			14.200
K	35.600 (\pm 6000)	47.400 (40.000-53.900)	
P	29.900 (\pm 4200)	34.000 (26.600-41.400)	24.200
R	16.300 (\pm 4400)	26.800 (19.900-34.300)	19.300

La datación de los linajes es clave para poder establecer la profundidad temporal de las rutas migratorias y detectar los cambios que dieron lugar a nuevos linajes.

En la figura 1 se puede observar el árbol filogenético que resultó de la re-denominación de los linajes paternos desde la rama más ancestral hasta los clados más derivados. El clado más ancestral está definido por el haplogrupo A, las mutaciones características de este grupo se han encontrado únicamente en poblaciones nativas del continente

africano (Figura 2) (Hammer *et al.* 2001; Underhill *et al.* 2001, Semino *et al.* 2002; Jobling y Smith 2003; Wood *et al.* 2005; Poznik *et al.* 2013; Scozzari *et al.* 2014). El clado B al igual que el A, también se ha encontrado exclusivamente en poblaciones del África subsahariana (Figura 2) (Hammer *et al.* 2001; Underhill *et al.* 2001; Cruciani *et al.* 2002; Semino *et al.* 2002; Jobling y Tyler-Smith 2003; Wood *et al.* 2005; Poznik *et al.* 2013; Scozzari *et al.* 2014). El clado C a diferencia del A y B no se ha encontrado en poblaciones africanas, lo cual sugiere un origen asiático que se produjo después que las primeras poblaciones migraron fuera de África (Figura 2). Dentro de los sub-haplogrupos del haplogrupo C se encuentran C4, C5 y C6, exclusivas de poblaciones de Australia, del Sur y Centro de Asia y Nueva Guinea respectivamente (Karafet *et al.* 2008). El sub-haplogrupo C3b y C3* también se encontró en poblaciones nativas americanas (Zegura *et al.* 2004, Geppert *et al.* 2011; Mezzavilla *et al.* 2014). El clado D solo se ha encontrado dentro de Asia, con altas frecuencias en las poblaciones del Tíbet y Japón (Figura 2) (Su *et al.* 2000; Karafet *et al.* 2001; Thangaraj *et al.* 2003; Hammer *et al.* 2006). El clado más diverso de todo el árbol filogenético del cromosoma Y, es el E (Karafet *et al.* 2008). Este haplogrupo tiene una amplia distribución, se ha encontrado en poblaciones africanas, también en el Este y Sur de Europa aunque con una menor frecuencia y con una muy baja frecuencia en poblaciones del Centro y Sur de Asia (Figura 2). (Hammer *et al.* 1998; Underhill *et al.* 2001; Cruciani *et al.* 2002; Jobling y Smith 2003; Semino *et al.* 2004; Sims *et al.* 2007).

El clado F presenta el estado derivado para marcador M89, este alelo derivado es común para todas las demás ramas más derivadas del árbol, el haplogrupo F es cercano al haplogrupo C. Presenta una datación que los asocia con una distribución típicamente fuera de África. La colonización de Eurasia podría haber consistido en un solo proceso migratorio datado hace 70.000 años según evidencias genéticas y arqueológicas (Tabla 1). Conforme a ello y al número de mutaciones, se estima que F se habría originado hace unos 48.000 años. El para-grupo F(xK) es decir los clados que presentan el estado derivado para M89 pero son ancestrales para M9, se encuentran distribuidos en poblaciones del Este de Asia (Figura 2) (Sengupta *et al.* 2006). Dentro de este grupo están los clados G, H I y J. El clado G está presente en poblaciones de Medio Oriente y el Mediterráneo (Figura 2) (Jobling y Tyler-Smith 2003; Behar *et al.* 2004; Cinnioglu *et al.* 2004; Nasidze *et al.* 2005; Regueiro *et al.* 2006; Sengupta *et al.* 2006). Una única mutación define la rama más ancestral del clado H, su distribución geográfica está restringida a poblaciones de la India (Figura 2) (Jobling

y Smith 2003; Karafet *et al.* 2005; Sengupta *et al.* 2006). Los sub-haplogrupos del clado I están divididos en dos subclados mayoritarios: I1 e I2 (Karafet *et al.* 2008; Hammer *et al.* 2001; Jobling y Smith 2003; Rootsi *et al.* 2004). El subclado I1 se ha encontrado mayoritariamente en poblaciones del Norte de Europa mientras que I2 es más frecuente en el Este de Europa (Rootsi *et al.* 2004) (Figura 2). Al igual que el clado I, todos los sub-haplogrupos dentro del clado J se dividen en dos sub-grupos mayoritarios: J1 y J2, los cuales presentan una amplia distribución geográfica que va desde Medio Oriente, norte de África, Europa, Asia Central, Pakistán y la India (Figura 2) (Hammer *et al.* 2000, Hammer *et al.* 2001; Underhill *et al.* 2001; Semino *et al.* 2002; Behar *et al.* 2004; Cinnioglu *et al.* 2004; Sengupta *et al.* 2006).

El clado K está definido por el estado derivado del marcador M9, contiene a los haplogrupos L, M, N, O, P, Q, R, S y T (Karafet *et al.* 2008). Además, presenta 4 polimorfismos que definen 4 para-grupos K que se han encontrado en poblaciones de Oceanía, Indonesia y Australia (Figura 2). El clado L tiene una amplia distribución geográfica: se han encontrado en Medio Oriente, Asia Central, el norte de África y en Europa a lo largo de la costa mediterránea (Figura 2) (Underhill *et al.* 2001; Cruciani *et al.* 2002; Jobling y Tyler-Smith 2003; Behar *et al.* 2004; Cinnioglu *et al.* 2004; Karafet *et al.* 2005; Sengupta *et al.* 2006). El clado M tiene una distribución geográfica restringida a las poblaciones de Oceanía y el Este de Indonesia (Figura 2) (Su *et al.* 2000; Capelli *et al.* 2001; Hammer *et al.* 2001; Hurles *et al.* 2002; Karafet *et al.* 2005; Kayser *et al.* 2006; Scheinfeldt *et al.* 2006). Los sub-haplogrupos del clado N se encuentran distribuidos en las poblaciones del norte de Eurasia (Figura 2) (Karafet *et al.* 2001; Rootsi *et al.* 2007). El clado O está presente en las poblaciones del Asia Central y del Este y Oceanía (Figura 2) (Su *et al.* 1999; Karafet *et al.* 2001; Underhill *et al.* 2001; Deng *et al.* 2004). Uno de los sub-haplogrupos (O3*) se ha encontrado también en bajas frecuencias en China, Taiwán e Indonesia (Karafet *et al.* 2008). El clado S fue redefinido, anteriormente estaba asignado al sub-haplogrupo K, definido por la mutación M230 y predominantemente se encuentra en Oceanía e Indonesia (Figura 2) (Kayser *et al.* 2006; Scheinfeldt *et al.* 2006). El clado T, al igual que S, fue redefinido de un sub-haplogrupo K, el K2. Es característico de poblaciones de Medio Oriente, África y Europa (Figura 2) (Underhill *et al.* 2001; King *et al.* 2007).

El clado P contiene los dos clados más frecuentes en poblaciones americanas: el R y el clado Q (Karafet *et al.* 2008). El clado Q está definido por la mutación M242,

presenta una amplia distribución en el norte de Eurasia y en algunos grupos siberianos (Karafet *et al.* 2002), con una frecuencia más baja se encuentra también en Europa, Este de Asia y Medio Oriente. El sub-haplogrupo Q (M3) es propio de poblaciones nativas americanas (Figura 2) (Underhill *et al.* 1996; Zegura *et al.* 2004). Este clado presenta también un paragrupo (Q*) que ha sido encontrado en poblaciones de India, Pakistán y algunas poblaciones del continente americano (Regueiro *et al.* 2006; Karafet *et al.* 2008, Grugni *et al.* 2012; Dulik *et al.* 2012). El clado R tiene una amplia distribución pero se considera como el clado propio del continente europeo (Figura 2) (Sims *et al.* 2007; Karafet *et al.* 2008; Underhill *et al.* 2010; Myres *et al.* 2011; Cortellini *et al.* 2013).

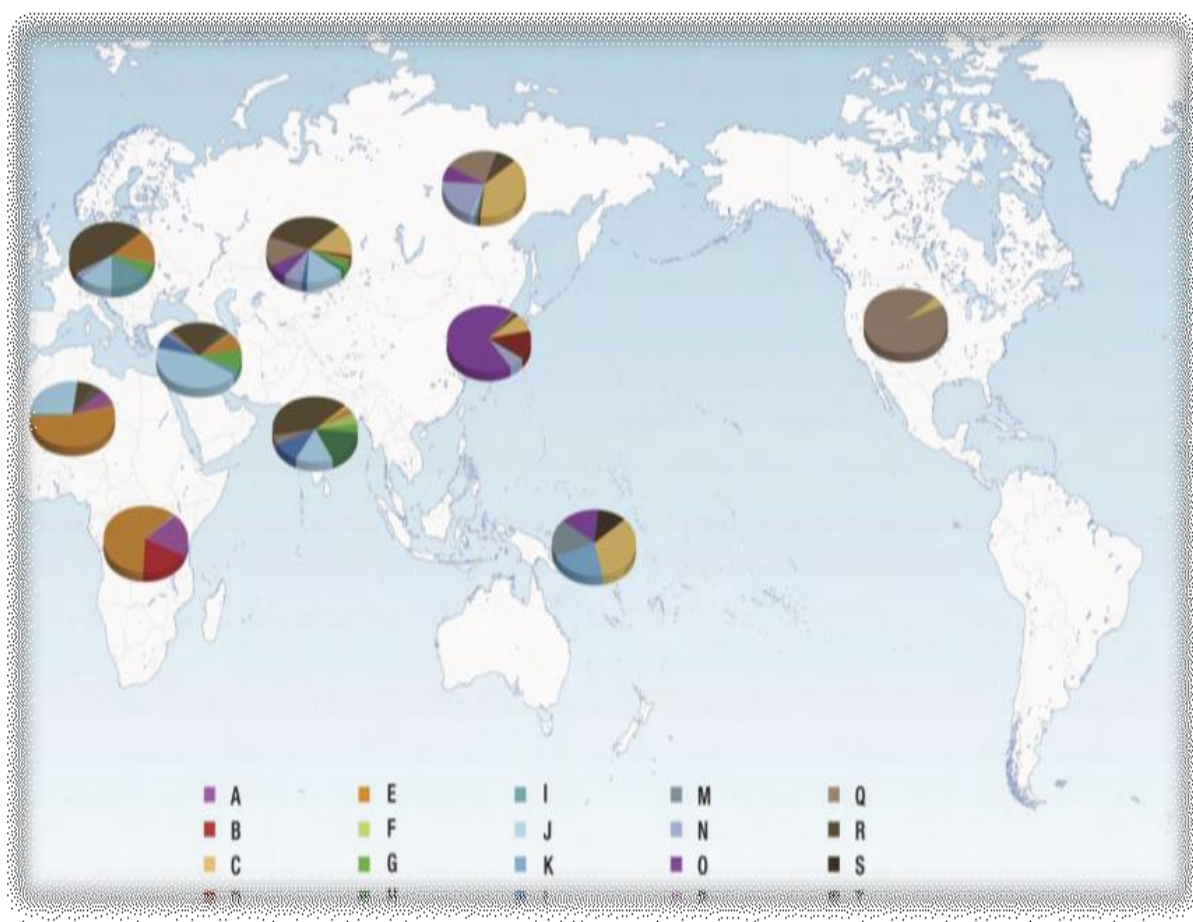


Figura 2. Diagrama de la distribución geográfica de los haplogrupos del cromosoma Y en todo el mundo. Tomado de Karafet *et al.* 2008.

Las herramientas moleculares, junto con los hallazgos arqueológicos permiten elaborar teorías sobre cómo llegaron los primeros pobladores al continente americano, cómo se

dispersaron y cómo su estructura y conformación genética fue cambiando después de la llegada de los conquistadores europeos (Greenberg *et al.* 1986; Greenberg 1987; Santos *et al.* 1999; Rasmus 2005; Zegura *et al.* 2004; Hey 2005; Wang *et al.* 2008; Reich *et al.* 2012). Cuando se estudia cuáles fueron las posibles rutas de poblamiento y cuáles fueron los cromosomas que ocuparon por vez primera el continente, es de suma importancia complementar el conocimiento investigando la representatividad de dichos cromosomas en las poblaciones actuales y cómo esa configuración cambió después de la llegada de los conquistadores del Viejo Mundo y las posteriores migraciones desde Europa. En América, gran parte de los linajes extra continentales pertenecen al clado R, evidencia de la llegada de los europeos desde 1492 y posteriormente, la fuerte migración europea entre el siglo 19 y comienzos del siglo 20. Este fenómeno se observa en varios países americanos como Argentina (Bailliet *et al.* 2009; Ramallo *et al.* 2009), Brasil (Bortolini *et al.* 2003), México (Rangel-Villalobos *et al.* 2008) y Estados Unidos (Zegura *et al.* 2004; Bolnick *et al.* 2006). Sin embargo, no solo se ha encontrado el haplogrupo R en las poblaciones sudamericanas actuales, también tuvo gran impacto la introducción forzada de esclavos africanos y las corrientes migratorias que provenían de Medio Oriente (Ramallo *et al.* 2009).

Las herramientas moleculares han permitido ahondar cada vez más en la historia humana, estudiando la gran cantidad de información que posee el cromosoma Y, los cambios en configuración y diversidad al interior de un mismo linaje y dentro de las distintas poblaciones (Bailliet *et al.* 2005, Ramallo *et al.* 2005; Wang *et al.* 2008, García *et al.* 2008).

1.2.2 Microsatélites: buscando variabilidad dentro de los linajes

Los microsatélites, también llamados STR (del inglés “Short Tandem Repeats”) (Hancock 1999), son marcadores de ADN que consisten en repeticiones en tándem de secuencias de nucleótidos de no más de seis pares de bases (pb) de longitud. Han sido encontrados en todas las especies estudiadas y con una distribución casi uniforme, pudiendo estar tanto dentro de regiones codificantes; como en las no codificantes (Hancock 1999, Schlötterer y Wiehe 1999).

Otra característica de los sistemas de STR es que se los considera selectivamente neutros (Schlotterer 1999), lo que los hace más aptos para estudios de diversidad y comparación de poblaciones, ya que se estaría minimizando el efecto de la selección. Los microsatélites son los marcadores ampliamente usados en los estudios asociados con diversidad genética, mapeo genético, estudios de algunas patologías hereditarias y de relaciones familiares tales como identificación de individuos y pruebas de paternidad. La tasa mutacional promedio por locus por generación para los microsatélites es $3,17 \times 10^{-3}$ (1,89-4,94) y varía entre marcadores (50% de posibilidades de encontrar 1 alelo mutado en F2 si se analizan al menos 50 loci) (Ballantyne *et al.* 2010). El uso combinado de haplogrupos definidos por SNPs y haplotipos definidos por STRs, permite determinar linajes, a partir de los cuales es posible identificar condiciones de ancestralidad común o correlación filogenética (Bailliet *et al.* 2011).

1.3 El cromosoma Y americano

Las primeras investigaciones del cromosoma Y en poblaciones americanas se iniciaron con la caracterización del sistema alfoide (secuencia repetitiva, específica del cromosoma Y DYZ1) y el microsatélite DYS19. Se encontró que las poblaciones autóctonas eran portadoras de las variantes IIA para dichos loci (Pena *et al.* 1995; Santos *et al.* 1995, Santos *et al.* 1996). En América hasta el momento, se han identificado 3 linajes fundadores del cromosoma Y, definidos por:

- El SNP DYS199 actualmente denominado M3 que define el haplogrupo Q1a2a1a1. (<http://www.isogg.org/>). Este linaje ha sido encontrado a lo largo de todo el continente y es prácticamente exclusivo de América. Se ha encontrado con una frecuencia entre 60% y 90% en las poblaciones autodenominadas aborígenes (Underhill *et al.* 1996; Bianchi *et al.* 1998; Dipierri *et al.* 1998^a; Dipierri *et al.* 1998^b; Bailliet *et al.* 2001; Martínez-Marignac *et al.* 2001; Tarazona-Santos *et al.* 2001; Bortolini *et al.* 2003; Seielstad *et al.* 2003; Bolnick *et al.* 2006; Ramallo *et al.* 2006; Karafet *et al.* 2008; Ramallo *et al.* 2009; Blanco-Verea *et al.* 2010; Jota *et al.* 2011; Bisso-Machado *et al.* 2012; Nuñez *et al.* 2012; Sandoval *et al.* 2012; Roewer *et al.* 2013).

- El SNP RPS4Y que define el haplogrupo C (Bergen *et al.* 1999; <http://www.isogg.org/>), presenta una frecuencia mucho más baja en comparación con QM3 (Q1a2a1a1) en América, dentro de este linaje el SNP M217 define el para-grupo C3* que se ha encontrado en poblaciones de Norte América: Tanana, Navajo, Apache, Cheyenne, Sioux (Canadá y Estados), en dos individuos Wuayu grupo aborígen que habita en la península de la Guajira (territorio fronterizo entre Colombia y Venezuela) (Zegura *et al.* 2004), en Guaraníes (zona amazónica de Ecuador) (Gepper *et al.* 2011) y en poblaciones mezcladas de Argentina (Corach *et al.* 2010). El SNP P39 que define el sub haplogrupo C3b hasta el momento solo ha sido encontrado en poblaciones aborígenes de la familia lingüística “Na-Dene (restringido a Norte América) (Zegura *et al.* 2004).
- El para-grupo Q(xM3), se denominan así a los cromosomas que presentan el estado derivado para el marcador M242 que define el haplogrupo Q y el estado ancestral para el marcador M3 (Seielstad *et al.* 2003), en Norteamérica es el segundo linaje en frecuencia cuando no está presente C (Zegura *et al.* 2004; Bolnick *et al.* 2006); en Sudamérica se encuentra en frecuencias menores (Bailliet *et al.* 2009, Regueiro *et al.* 2013; Geppert *et al.* 2015).

El haplogrupo Q ha acumulado gran cantidad de polimorfismos a lo largo de su historia (Karafet *et al.* 2008). Q1, definido por P36.2 (www.isogg.org) se ha encontrado en poblaciones del este de Siberia, el norte de América y en poblaciones Europeas de Judíos Ashkenazi (YCC 2002; Beahar *et al.* 2004; Malyarchuk *et al.* 2011), mientras que Q1a, definido por el marcador MEH2 (www.isogg.org) hasta el momento solo se ha registrado en Asia (Dulik *et al.* 2012^a; Battaglia *et al.* 2013). Q1a1a1 está definido por M120 (www.isogg.org) se ha encontrado en poblaciones asiáticas, del Tíbet y norte de China (Zhong *et al.* 2010; Battaglia *et al.* 2013; Zhao *et al.* 2014), Q1a1b definido por M25 (www.isogg.org) se halla en poblaciones de Medio Oriente, Pakistán, sur de Siberia, centro de Asia y Mongolia (Underhill *et al.* 2001; Cinnioglu *et al.* 2004; Regueiro *et al.* 2006; Abu-Amero *et al.* 2009; Grugni *et al.* 2012; Dulik *et al.* 2012; Battaglia *et al.* 2013), Q1a1a definido por NWT01, ha sido identificado en restos óseos pertenecientes a la cultura Saqqaq, y en dos poblaciones aborígenes de Rusia (Koryaks y Chukchi) sugiriendo así que estas etnias son cercanas a la cultura Saqqaq

y que es posible que Q1a1a represente un componente genético antiguo, que en el pasado unió a las poblaciones del noreste de Asia, Norte América y Groenlandia (Malyarchuk *et al.* 2011; Battaglia *et al.* 2013). El polimorfismo M346 define a Q1a2 (www.isogg.org), reportado en Arabia Saudita, India, Pakistan, sur de Rusia (Altai), y en centro-sur de Bulgaria (Plovdiv) (Sengupta *et al.* 2006, Abu-Amero *et al.* 2009; Dulik *et al.* 2012^b; Karachanak *et al.* 2013). Q1a2a1 definido por el marcador L54 (www.isogg.org), recientemente ha sido propuesto como otro grupo fundador, reemplazando a Q-M346 (Dulik *et al.* 2012; Battaglia *et al.* 2013; Geppert *et al.* 2015) considerando que se encuentra filogenéticamente ubicado entre M346 y M3, y que ha sido encontrado en Asia, el Norte de Siberia, Mongolia (Battaglia *et al.* 2013; Regueiro *et al.* 2013; Geppert *et al.* 2015), en varias poblaciones del continente americano Norte de Canadá (en la etnia Gwich'in, que pertenece al grupo lingüístico na-dené) (Dulik *et al.* 2012^a), Centro América (en la etnia Maya de Guatemala y México) (Regueiro *et al.* 2013) y recientemente estudios de ADN antiguo en restos humanos directamente asociados con el periodo Clovis revelaron que dicho individuo pertenecía al linaje Q-L54 (Rasmussen *et al.* 2014) siendo así el linaje más derivado compartido entre el continente asiático y el continente americano. Dentro de Q-L54 hasta el momento se han descrito tres ramas a) CTS11969, marcador ancestral de M3, b) CTS2730 (sinónimo de Z780) que define a Q1a2a1b presente en poblaciones de Nicaragua y Ecuador (etnia Quechua) (Geppert *et al.* 2015) y es el grupo ancestral de L191 que define a Q1a2a1b1 se ha encontrado en poblaciones de México (Battaglia *et al.* 2013) y c) L330 que define a Q1a2a1c presente en poblaciones de Mongolia (Battaglia *et al.* 2013).

El linaje Q-M3 como se menciona anteriormente, ha sido ampliamente estudiado y se han encontrado diversas variantes dentro de este clado: a) M19 (Underhill *et al.* 1996) define el clado Q1a2a1a1a, ha sido hallado en 22 de 33 individuos de la etnia Ticuna, en 2 de 19 individuos de la etnia Wayuu y en 2 de 49 individuos de la etnia Toba (Bortolini *et al.* 2003; Toscanini *et al.* 2011); b) M194 (Underhill *et al.* 2001) define a Q1a2a1a1b, fue descrita en un individuo maya (Shen *et al.* 2000); c) M199 (Underhill *et al.* 2001); caracteriza a Q1a2a1a1c fue encontrada en un individuo suruí (Shen *et al.* 2000); d) SA01 que define el haplogrupo Q1a2a1a1e y ha sido encontrado en poblaciones andinas de Perú y Bolivia (Jota *et al.* 2011), e) M557 y PV22 descritos por primera vez en el 2013 por el grupo de Battaglia, los nombres de los sub-haplogrupos

que definen estos marcadores aún no han sido asignados por el ISOGG, fueron encontradas ambas variantes en poblaciones de Perú y d) el marcador MG2 descrito por primera vez en el 2015 por el grupo de Gepper tampoco ha sido asignado el nombre del sub-haplogrupo, fue encontrado en individuos de la etnia Quechua en Ecuador. Las evidencias presentes hacen suponer que las divergencias encontradas, se produjeron en un cromosoma Q durante o poco antes del cruce del estrecho de Bering o en áreas cercanas al estrecho de Bering (Lell *et al.* 2002; YCC 2002; Karafet *et al.* 2008). En tanto el origen de Q*, pudo haber precedido la expansión desde Asia al resto del mundo (Bortolini *et al.* 2003; Seielstad *et al.* 2003).

Por otro lado, empleando los microsatélites es posible observar diferenciación entre las poblaciones americanas dentro del mismo haplogrupo Q1a2a1a1 (QM3) (Martínez-Marignac *et al.* 2001; Altuna *et al.* 2006; Bolnick *et al.* 2006; Bailliet *et al.* 2009). Diversas investigaciones han demostrado un fuerte efecto fundador en los linajes paternos durante el poblamiento de América, por lo que la mayoría de los cromosomas Y pertenecen a un único linaje. Mediante el estudio de microsatélites específicos del cromosoma Y se definieron haplotipos, uno de estos fue identificado como ancestral para la diversificación de los cromosomas Y portadores de la mutación M3 (Bianchi *et al.* 1998). Mediante métodos de máxima parsimonia, distintos autores han calculado el tiempo de divergencia de los linajes: 22.770 años (13.500 - 58.700) (Bianchi *et al.* 1998); 11.456 (9.423-13.797) (Ruiz-Linares *et al.* 1999); 7.570 años (SE 681) (Bortolini *et al.* 2003). Las diferencias temporales en los tres trabajos se deben fundamentalmente al ajuste de cálculo de las tasas mutacionales y a la edad generacional considerada. Mientras el trabajo de Bianchi y el de Ruiz Linares, considera 27 años, el de Bortolini considera 25 años.

1.4 Área geográfica

1.4.1 Noroeste y Cuyo argentino

El noroeste argentino (NOA) está conformado por el territorio que comprende las provincias de Jujuy, Salta, Catamarca, Tucumán, Santiago del Estero y La Rioja (Dipierri *et al.* 2005). Sin embargo no hay un consenso definitivo sobre las provincias que integran el NOA, algunos investigadores no incluyen a la provincia de La Rioja por diferencias básicamente económicas (Dipierri *et al.* 2011). Por otro lado, si bien

Santiago del Estero presenta características geográficas y físicas que lo asocian más con la región chaqueña, históricamente fue considerado como parte del Tucumán debido a su continuo flujo cultural y económico (Lorandi, 1988). Biogeográficamente el NOA integra la Región Neotropical, esta región es un interesante foco de mestizaje dado que también fue blanco de invasiones incas (1475-1535) y la colonización europea (entre 1535-1811) (Lorandi 1998).

La historia del poblamiento en la región del NOA puede dividirse en tres etapas pre colonial, colonial y de formación de estado nacional (Dipierri *et al.* 2011). El ingreso masivo de migrantes se concentró en las capitales provinciales, con una particular afinidad por Tucumán. En esta provincia hubo una importante inmigración de italianos, franceses, judíos, sirios y libaneses. Por el contrario, en las áreas más altas como la puna de Jujuy predomina la ascendencia indígena (Dipierri *et al.* 2014). Diversos estudios a partir de marcadores genéticos han encontrado una influencia de la altitud en el “pool” genético de las poblaciones, sugiriendo que la diversidad genética puede estar geográficamente estructurada (Dipierri *et al.* 2000, Dipierri *et al.* 2014).

Las poblaciones aisladas en la región del NOA se encuentran en las zonas más altas y presentan una contribución nativo americana, predominantemente (Dipierri *et al.* 1998, Dipierri *et al.* 1999; Demarchi *et al.* 2000; Morales *et al.* 2000; Tamm *et al.* 2007; Wang *et al.* 2008). Las poblaciones que ocupan las regiones de altura revelan un patrón de mestizaje diferencial después de la conquista y colonización europea. Dado su posterior asentamiento, tienen mayor afinidad biológica con las poblaciones de los Andes centrales y del sur (Dipierri *et al.* 2014).

Por otro lado, la región de Cuyo que comprende las provincias de Mendoza, San Juan y San Luis, está situada en el centro-oeste del país. Como se mencionó anteriormente, La Rioja se incorporó a esta región a principios de 1988. Sin embargo no se ha producido ningún cambio institucional y se sigue considerando como parte del NOA (Dipierri *et al.* 2005). En cuanto al poblamiento inicial del centro-oeste argentino, los sitios arqueológicos más antiguos se hallan próximos a la cordillera y son levemente más modernos que los sitios chilenos, sugiriendo un sentido oeste-este para el poblamiento de la región. El ingreso de los humanos en dicho territorio se habría dado a través de pasos inter-cordillera. La ubicación de los sitios señala al menos dos áreas

principales de ingreso, una en la Puna y otra a la altura de Mendoza (Rivero y Berberian 2008). Entre San Luis y Buenos Aires se generó un camino por medio de La Pampa, este fue un paso clave hacia Santiago de Chile y el puerto de Buenos Aires. En la región cuyana se asentaron grandes oleadas de inmigrantes desde la conquista y posteriormente les sucedieron las migraciones desde el Viejo Continente (Rivero y Berberian 2008). A partir de diversos estudios moleculares se ha encontrado que en la región hay una baja contribución de linajes paternos nativos de América, encontrándose con mayor frecuencia los linajes característicos de Europa (García *et al.* 2008; Bailliet *et al.* 2009; Ramallo *et al.* 2009; Zucarelli *et al.* 2010).

1.4.2 Cultura y sociedad de las poblaciones argentinas

Tras la conquista española, las poblaciones autóctonas fueron sometidas y obligadas a adoptar las formas de vida de los colonos. Algunas de las sociedades nativas se resistieron conservando la región pampeana, La Patagonia y el Gran Chaco como último refugio (Romero 1977). Poco a poco, a lo largo del todo el país se fueron construyendo centros urbanos donde se iban radicando algunos pobladores españoles y posteriormente criollos ya nacidos en América y en los alrededores se mantuvieron algunos grupos indígenas que eran sometidos al duro régimen de la encomienda (Romero 1977). No fue hasta 1810 durante la Revolución de Mayo que Argentina se consolidó como territorio independiente. A finales del siglo XIX y la primera mitad del XX el país vuelve a ser destino de oleadas de migrantes urbanos provenientes principalmente de Europa y en menor medida del Oriente Medio (Amaral 1993). Dichos inmigrantes tuvieron diferentes afinidades para radicarse en las distintas regiones, estas preferencias dependían básicamente de las ofertas laborales y la economía de cada región. La historia de estos asentamientos y de cómo fue cambiando la estructura de la población se puede evidenciar en la conformación de las poblaciones actuales. En la tabla 2 se ordenan en forma decreciente las localidades según la cantidad de habitantes, que se registran el censo para el año 2010.

Tabla 2. Cantidad de habitantes por localidad, Censo Nacional de Población, INDEC 2010.

Localidad	Departamento	Provincia	Censo 2010
San Miguel de Tucumán	Capital	Tucumán	548.866
Salta	Capital	Salta	536.113
San Salvador de Jujuy	Dr. Manuel Belgrano	Jujuy	265.249
La Rioja	Capital	La Rioja	180.995
Catamarca	Capital	Catamarca	159.703
San Juan	Capital	San Juan	109.123
Mendoza	Capital	Mendoza	115.041
Villa Tulumaya	Lavalle	Mendoza	36.738
Belén	Belén	Catamarca	27.843
Malargüe	Malargüe	Mendoza	27.660
Santa María	Santa María	Catamarca	22.548
La Quiaca	Yavi	Jujuy	20.806
Maimará	Tilcara	Jujuy	12.349
Calingasta	Calingasta	San Juan	8.588
Chepes	Rosario Vera Peñaloza	La Rioja	3.073

Sin embargo, si consideramos los censos evaluando la localidad más el área de influencia, podemos tener una visión más panorámica de la situación demográfica de cada región como se observa en la tabla 3.

Tabla 3. Población de los grandes centros urbanos de la Argentina, Censo Nacional de Población, INDEC 2010.

Aglomerado urbano	Año 2010
Gran Buenos Aires	13.596.320
Gran Córdoba	1.466.823
Gran Rosario	1.236.089
Gran Mendoza	1.086.126
Gran San Miguel de Tucumán	794.237
Gran La Plata	787.294
Mar del Plata	593.337
Gran Salta	539.187
Gran Santa Fe	490.171
Gran San Juan	461.213

De las localidades muestreadas, Tucumán es la que presenta mayor cantidad de habitantes y ocupa el quinto lugar en tamaño poblacional de todos los centros urbanos del país según el censo del año 2010. La dominación colonial tuvo un impacto de 'bomba de fragmentación' sobre la población indígena, esta política tuvo fuertes efectos sobre el mestizaje en el noroeste argentino conllevando a una pérdida de la cultura nativa. Se privilegió el establecimiento de estancias europeas y misiones fundamentalmente jesuitas (Lorandi 1998; Paz 2008), las que desarrollaron diversas actividades agropecuarias, además de explotar la industria del cuero. Como consecuencia de estos sucesos, Tucumán es hoy la provincia con mayor capacidad productiva del NOA, con un PGB (Producto Bruto Geográfico) alrededor del 2,1% del PBI de Argentina (Ministerio de Economía de la Nación - Dirección Nacional de Programación Económica Regional). Estos eventos resultarían determinantes en la referencia a atracción de inmigrantes.

El Gran Mendoza constituye el cuarto aglomerado urbano a nivel nacional. Al igual que Tucumán, es un foco de atracción de población por su importante desarrollo en la industria del vino y por su geografía, que la convierte en la ruta comercial más importante con Chile. La economía de esta región demandó históricamente una gran cantidad de mano de obra para la agricultura, lo que la hace un destino idóneo para el establecimiento de los inmigrantes que llegaron al país en busca de trabajo. Este fenómeno puede observarse incluso desde los primeros censos por ejemplo en el censo de 1914, el 28% de los habitantes de esta región procedían de Europa y Medio Oriente (INDEC 2010).

Salta y San Juan forman parte de los diez centros urbanos más grandes del país. Si bien estas provincias forman parte de diferentes regiones (NOA y CUYO respectivamente) ambas se caracterizan por tener un porcentaje alto de trabajo informal. Las estadísticas del INDEC muestran que, en los últimos años, esta modalidad ha aumentado por encima del 40%, lo que puede asociarse a migración desde regiones limítrofes que persigue un mercado estacional e informal de trabajo. Las provincias de Catamarca, Jujuy y La Rioja apoyan fuertemente su economía en el sector minero. Son regiones áridas que históricamente han resultado lugares poco atractivos para los inmigrantes europeos (Lattes 1976).

El desarrollo económico de cada región es un factor determinante en los procesos migratorios, por tal razón, el contexto socio-histórico es un elemento que siempre debe considerarse cuando se aborda la distribución de linajes genéticos, sobre todo los linajes paternos ya que históricamente los varones han tenido una la dinámica de trabajo que emplea más hombres que mujeres en trabajos a larga distancia.



2. Materiales y Métodos

2.1 Muestreo y consideraciones éticas

Las muestras utilizadas en este trabajo fueron obtenidas en diferentes momentos. La mayoría proviene de muestreos sistemáticos realizados por el Laboratorio de Genética Molecular del IMBICE desde el año 2007, con excepción de las provenientes de las ciudades capitales de Salta, Jujuy, Tucumán y Catamarca. Estos muestreos cuentan con varias evaluaciones de Comités de Ética. El proyecto macro fue aprobado por el Comité de Ética del IMBICE y por el Comité Provincial de Bioética de la Provincia de Jujuy mientras que el muestreo en Santiago del Estero fue aprobado por Comité Institucional de Ética e Investigación en Salud (Anexo 1). En todos los casos se obtuvieron además los permisos de las autoridades competentes a nivel provincial, departamental o institucional. Los muestreos se realizaron en hospitales, centros de salud y bancos de sangre oficiales.

Todas las muestras se obtuvieron mediante consentimiento informado del donante (Anexo 2). Para mantener la confidencialidad, las muestras llegan al laboratorio codificadas por lugar de proveniencia y sexo, de manera de ser resguardada la identidad del voluntario. Los criterios de inclusión que se tuvieron en cuenta para la composición de la muestra fueron:

- ✓ Personas mayores de edad en buen estado de salud y en pleno uso de razón, que voluntariamente decidieron participar en el estudio.
- ✓ Ausencia de parentesco hasta tercer grado de consanguinidad.
- ✓ Información de ancestría. El parentesco y la ascendencia, se determinaron a partir de información solicitada al participante sobre el origen de sus padres y su filiación étnica y/o geográfica. (Anexo 3).

Del total de muestras de poblaciones urbanas de la colección del laboratorio de Genética Molecular Poblacional, 912 pertenecen a donantes varones, provenientes de 15 localidades de las regiones de Cuyo y noroeste de Argentina. (Figura 3). En la tabla 4 se especifica el número de varones muestreado en cada localidad

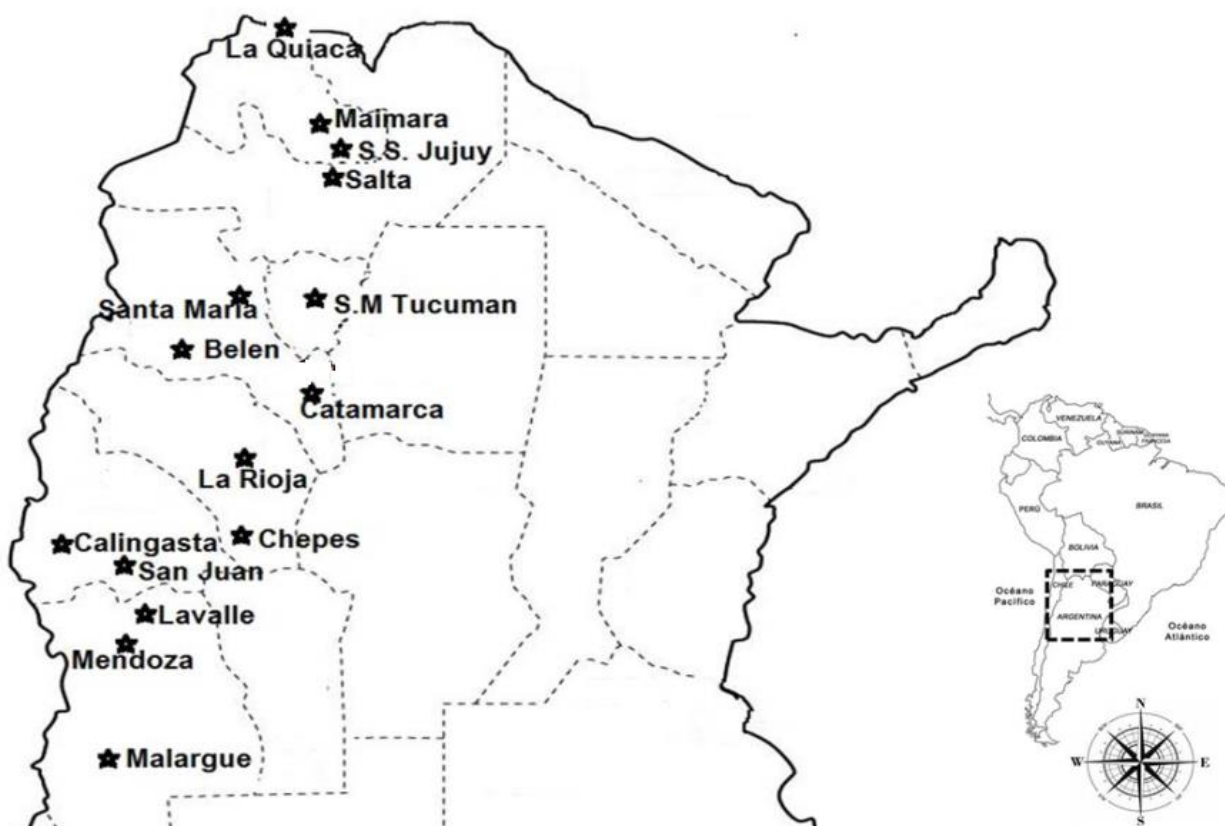


Figura 3. Mapa con las localidades muestreadas.

Tabla 4. Número total de varones por localidad muestreada.

Localidades	N
La Quiaca	73
Maimará	105
San Salvador de Jujuy	37
Salta	81
San Miguel de Tucumán	12
Santa María	72
Belén	58
Catamarca	96
La Rioja	86
Chepes	31
Calingasta	20
San Juan	86
Lavalle	36
Mendoza	78
Malargüe	41
TOTAL	912

2.2 Extracción de ADN

Las muestras de ADN empleadas en el presente trabajo fueron extraídas a partir de 15ml de sangre o de saliva. En ambos casos, el método de extracción empleado fue el de “salting out” (Miller *et al.* 1988). Este método permite obtener una alta concentración de ADN y tiene la ventaja de no utilizar reactivos tóxicos.

2.3 Tipificación de haplogrupos del Cromosoma Y

Umetsu y colaboradores han desarrollado una técnica de tipificación alelo-específica de SNPs para ADN mitocondrial (Umetsu *et al.* 2001; Umetsu *et al.* 2005). Este método consiste en diseñar tríos de oligonucleótidos o cebadores que reconocen la secuencia para el carácter derivado y ancestral, que se diferencian por tamaño mediante la adición de una cola de nucleótidos no complementaria, lo que permite distinguir por electroforesis en gel los distintos productos de amplificación de los dos alelos. Esta técnica presenta muchas ventajas sobre otros métodos tradicionales como la técnica de RFLP, que emplea enzimas de restricción (Torroni *et al.* 1992) SNAPshot con mini secuenciación (Sanchez *et al.* 2003) o *Real-Time* PCR (Zuccarelli *et al.* 2011), que resultan más costosas. En el presente trabajo se describe la técnica para la detección de SNPs del cromosoma Y por Múltiplex PCR-APLP (polimorfismos en la longitud del producto amplificado) que es una amplificación en múltiplex alelo específica. Los oligonucleótidos se diseñaron en función de las mutaciones características de los haplogrupos alóctonos de mayor frecuencia encontrados en Argentina y para los linajes propios de nativos americanos.

2.3.1 Diseño de los cebadores alelo-específicos

Como mencionamos anteriormente, el método se basa en la modificación de un cebador que reconoce preferentemente una variante alélica. En condiciones de alta especificidad pueden lograrse reacciones eficientes de PCR cuando la base 3' hidroxilo terminal del cebador es complementaria al nucleótido correspondiente del templado, mientras que la ausencia de complementariedad resulta en ausencia o deficiencia de replicación del otro alelo, se diseñaron tres cebadores para cada SNP, dos que reconocen diferencialmente los nucleótidos derivado y ancestral, respectivamente y un

tercer cebador que delimita el tamaño total del fragmento. A uno de los cebadores se le adicionó una cola de nucleótidos no complementaria, de manera de distinguir los productos de amplificación de los dos alelos. El tercer cebador delimita el tamaño total del fragmento. A continuación, se detalla la secuencia de pasos en el diseño experimental:

a) Se seleccionaron los SNPs que caracterizan los haplogrupos de interés. Estos se ubicaron en la secuencia de referencia (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp?term=homo%20sapiens>) con base a la nueva nomenclatura de Karafet y colaboradores (2008). Ubicado el polimorfismo, se seleccionó un fragmento adyacente, de aproximadamente 100pb a cada lado de dicho polimorfismo. Una vez analizada la secuencia, se determinó en cuál de los cebadores (*“forward”* o *“reverse”* del inglés) estaría incluido el SNP.

b) Para el diseño de los oligonucleótidos se empleó el programa Primer3 v0.3.0 (<http://frodo.wi.mit.edu>, Srozen y Skaletsky 2000). En primer lugar, la inclusión de la variante alélica se restringía a uno de los cebadores, delimitando el tamaño de acuerdo al número de marcadores que se incluirían en cada múltiplex, evitando así el solapamiento entre los fragmentos. Se utilizaron los parámetros establecidos por defecto en el programa Primer3:

- ✓ Temperatura de fusión (melting temperature o $T^{\circ}m$), entre los 55°C y 70°C.
- ✓ Dado que la $T^{\circ}m$ depende de la concentración de GC, también se tuvo en cuenta la proporción de GC, la cual debe estar alrededor del 50 al 60%.
- ✓ Longitud de las secuencias (dado que también afecta la $T^{\circ}m$)
- ✓ Evitamos las terminaciones 3' complementarias, para reducir la probabilidad de formar dímeros.

Las condiciones para optimizar al máximo el correcto funcionamiento de los oligonucleótidos se detallan en la tabla 5, con estas indicaciones, el software establece una pareja de cebadores adecuados, que cumplen con todas las condiciones de estabilidad.

c) Los oligonucleótidos alelo-específicos tienen la base complementaria a la variante alélica que se quiere amplificar en la terminal 3' OH. En el extremo 5' se adicionó una cola de nucleótidos no complementaria a la secuencia flanqueante del cebador. La cola de nucleótidos tiende a desequilibrar $T^{\circ}m$ (temperatura en la cual los cebadores seleccionados se aparean específicamente a la secuencia de interés), en casos extremos se introducen una base no apareada (o "mismatch") para estabilizarla. Una vez modificado el oligonucleótido, se simuló nuevamente mediante el software Primer3, para confirmar la estabilidad de la secuencia. Procedimos igual manera para diseñar el cebador que reconoce a la otra variante alélica, cambiando el nucleótido del extremo 3' y retirando la cola de nucleótidos, lo que permitirá observar una amplificación con diferencia de fragmentos para cada alelo.

d) Con el programa OligoCalc (Kibbe 2007, disponible en <http://www.basic.northwestern.edu/biotools/oligocalc.html>) se obtuvieron los valores de estabilidad termodinámica (energía libre de Gibbs; ΔG_o) de las interacciones detectadas entre cebadores (formación de horquillas, homodímeros o heterodímeros) que pueden dar lugar a errores en las reacciones de PCR. Este programa es más sensible que Primer3, puede reconocer si los oligonucleótidos tienen complementariedades o si forman algún otro tipo de estructura secundaria.

e) Como último control se rastreó si las secuencias diseñadas de los oligonucleótidos presentaban alguna complementariedad en algún otro locus del genoma humano, además de qué porcentaje de complementariedad tenían con el cromosoma Y. Se utilizó a estos fines el programa HumanBlat (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgBlat>; Kent 2002) Si durante este último control no se detectan anomalías, los oligonucleótidos se consideran óptimos para pasar a la fase experimental.

Tabla 5. Parámetros utilizados en el diseño de los oligonucleótidos.

Mínima longitud	18pb
Máxima Longitud	27pb
Mínima T°m	57°C
Máxima T°m	61°C
Varianza T°m	+/- 1-2 °C
Mínimo GC	30%
Máximo GC	60%
Mínima longitud del producto	60pb
Máxima Longitud del producto	160pb

2.3.2 Amplificación de marcadores bialélicos del cromosoma Y

La secuencia de los cebadores y sus concentraciones se detallan en el Anexo 4. El volumen final de las reacciones de PCR fue de 10 uL, se emplearon 10 ng de ADN genómico y las siguientes concentraciones de reactivos: 0.025U/uL de Platinum® Taq DNA Polymerase (Invitrogen), 0,75 mM MgCl₂, 1X tampón (Buffer) de reacción, 100uM dNTP y agua ultra pura hasta completar el volumen final. Cada cebador tenía una concentración óptima (Anexo 4). La reacción se llevó a cabo en un termociclador Biometra T3000. Después de 4 minutos de desnaturalización a 94°C, se llevaron a cabo 33 ciclos de amplificación, cada uno compuesto por: 1 min 94°C, 1 min 55°C y 1.5 min 72°C, seguido por un último paso de extensión final de 72°C por 10 min.

2.3.3 Polimorfismos de longitud de los productos de amplificación (APLP)

Basados en la filogenia del cromosoma Y (Karafet et al, 2008), conociendo la historia de migraciones alóctonas llegadas a Argentina y teniendo en cuenta las frecuencias de los linajes reportados para las poblaciones argentinas en trabajos previos (Bailliet *et al.* 2009; Ramallo *et al.* 2009; Corach *et al.* 2012; Parolin *et al.* 2012;), se eligieron los SNPs diagnósticos de los clados de interés para el presente trabajo. Como se muestra en la figura 4, se seleccionaron 18 SNPs organizados en 4 múltiplex. Seis tríos de cebadores conforman el múltiplex I que permite discriminar las ramas más basales del cromosoma Y. Corresponden a las corrientes migratorias que presentan mayores

frecuencias en las poblaciones urbanas de Argentina (marcadores M173, M242, M207, M172, M89 y M9). El mutiplex II diagnostica tres mutaciones dentro del clado Q (M242, M346 y M3), el múltiplex III resuelve los sub-haplogrupos del para-grupo F (P287, M253, M267 y M285), y el múltiplex IV los del clado R1 (M343, P297, SRY10831.2, M335). El haplogrupo E (P152) fue analizado en forma directa por PCR alelo específico únicamente en los individuos que presentaron el carácter ancestral para la mutación de M89. Este marcador debió analizarse en manera individual dado que su tamaño no era compatible con ningún múltiplex. Además de economizar tiempo, las reacciones de PCR en múltiplex permiten un auto control de asignación. Por ejemplo: en el múltiplex I, una muestra que presente el alelo derivado del marcador M242 (Hg Q), deberá ser ancestral para M173 (Hg R1), M207 (Hg R), M172 (Hg J2) y derivada para M9 (Hg K) y M89 (Hg F). De igual manera para cada uno de los demás marcadores analizados, cada muestra es control de sí misma cuando se estudia en múltiplex.

A partir de los resultados obtenidos con el múltiplex I, se procedió a seleccionar las muestras para analizar con los siguientes múltiplex. Aquellos individuos cuyo cromosoma Y presentase el alelo derivado para M242 fueron estudiados con el múltiplex II, las muestras derivadas para M173 se analizaron con el múltiplex IV, las muestras ancestrales para M9 se analizaron con el múltiplex III y finalmente las muestras que fueron ancestrales para M89 se analizaron con PCR simple con P152. En la figura 4 se esquematiza el cladograma que resume las relaciones filogenéticas entre clados y SNPs analizados.

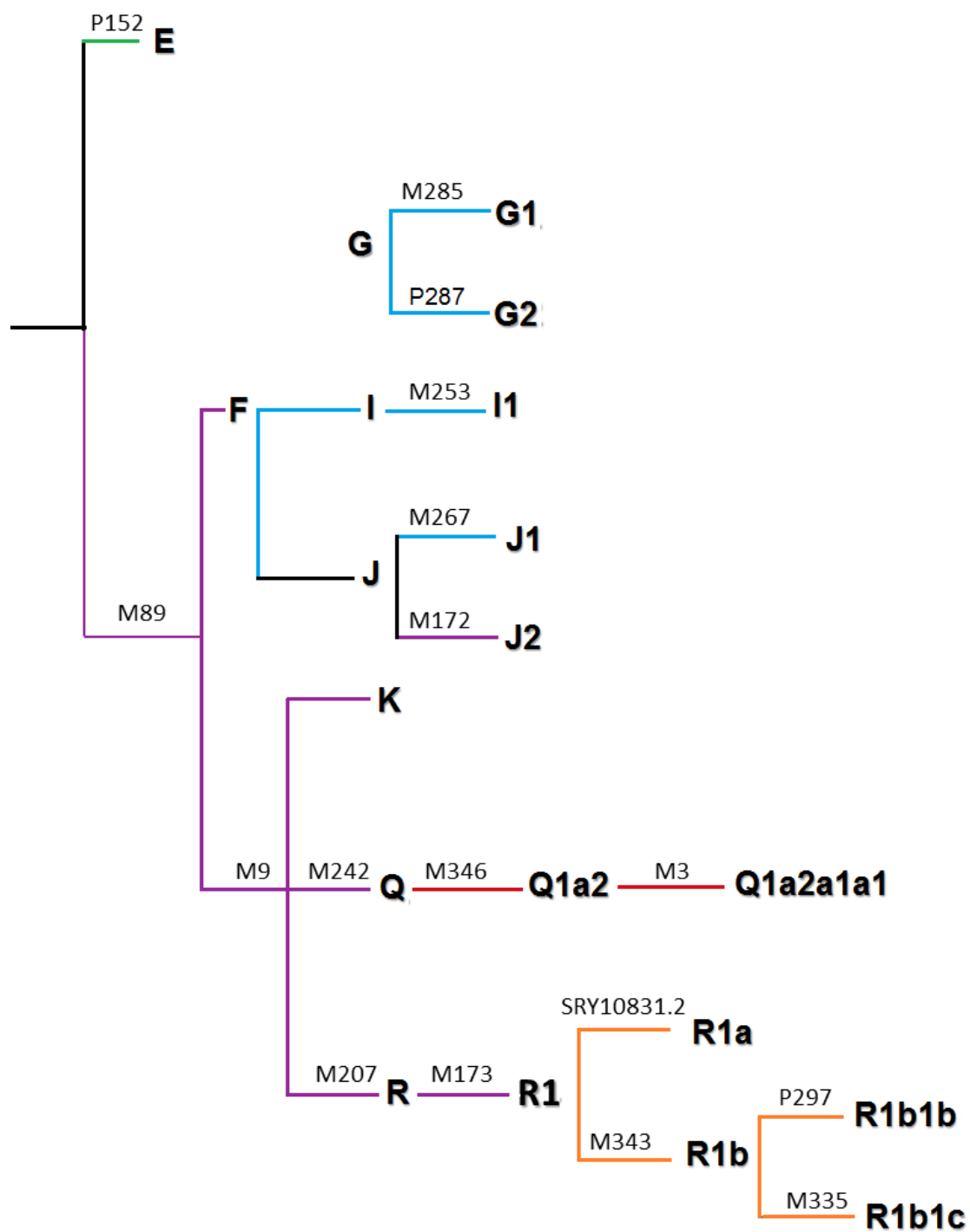


Figura 4. Cladograma con los SNPs analizados*.

*En violeta se grafican los polimorfismos del múltiplex I, en rojo los del múltiplex II, en turquesa los del múltiplex III, en naranja los del múltiplex IV y en verde el mono-plex del haplogrupo E.

2.3.4 Estandarización de la técnica de amplificación alelo-especifica en múltiplex

Los ensayos de los APLPs descritos en los puntos anteriores se llevaron a cabo con muestras que habían sido previamente caracterizadas por RFLPs y los resultados fueron consistentes. Una vez estandarizado, el método se empleó para tipificar las poblaciones del presente trabajo. Cuando está puesto a punto, este es un proceso muy sencillo, requiere solamente de una única reacción de amplificación y una posterior electroforesis en gel de poliacrilamida para asignar el estado alélico de los diferentes marcadores (Figura 5). Permite diagnosticar varios haplogrupos en una sola reacción, resultando cada muestra un auto control siguiendo el orden filogenético (Tabla 6).

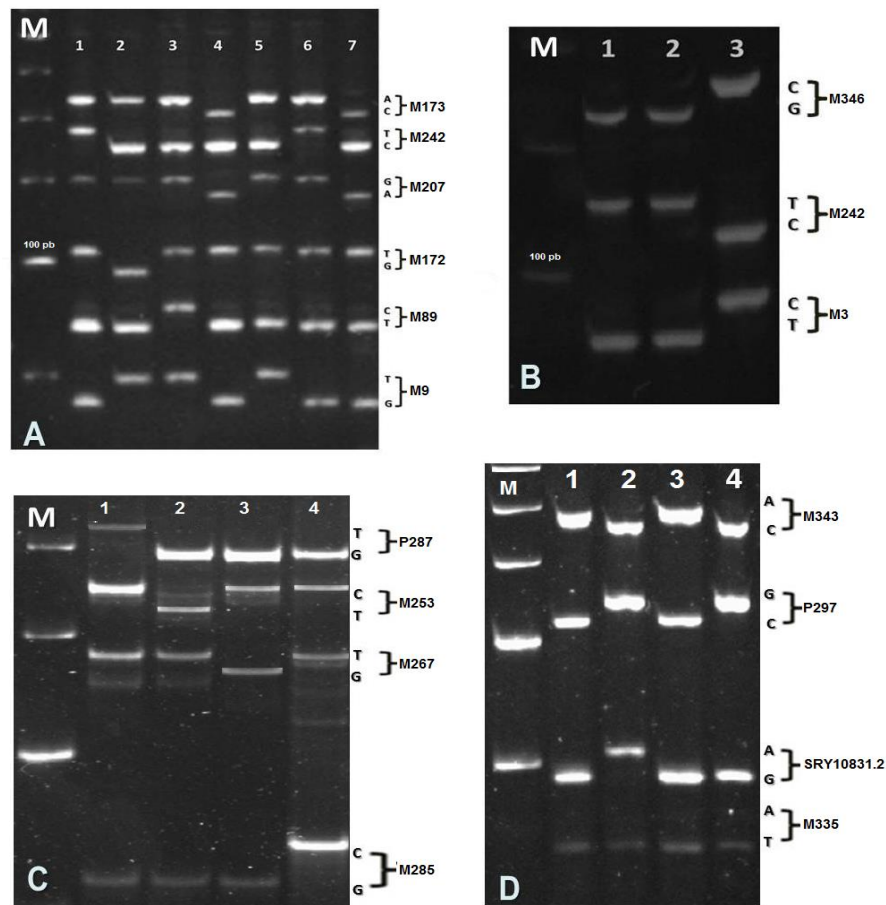


Figura 5. Bandas de los APLPs de los haplogrupos del cromosoma Y. A: últiplexmúltiplex I. B: múltiplex II. C: últiplexmúltiplex III. D: múltiplex IV. Con marcador de peso molecular (M) de 25-bp (Invitrogen).

Tabla 6. Sitios polimórficos que determinan los haplogrupos del cromosoma Y

Hg	YAP	P152	M89	P287	M285	M253	P215	M267	M172	M9	M207	M173	M343	P297	SRY 10831.2	M335	M242	P36.2	M346	M25	L54	CTS 2730	CTS 11969	M 3
D-E	2	G	C	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
E	2	A	C	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
F	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
G2	1	G	T	T	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
G1	1	G	T	G	T	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
I1	1	G	T	G	C	T	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
I2	1	G	T	G	C	C	G	A	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
J1	1	G	T	G	C	C	T	G	T	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
J2	1	G	T	G	C	C	T	A	G	C	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
K	1	G	T	G	C	C	T	A	T	G	A	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
R	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	G	A	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
R 1	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	G	C	C	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
R1a	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	G	C	A	G	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
R1b	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	G	C	A	C	G	T	C	G	C	G	A	T	T	C
R1b1b	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	G	C	A	C	A	T	C	G	C	G	A	T	T	C
R1b1c	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	G	C	A	C	A	A	C	G	C	G	A	T	T	C
Q	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	G	C	G	A	T	T	C
Q1	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	T	C	G	A	T	T	C
Q1a	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	G	G	G	A	T	T	C
Q1a1b	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	G	G	C	A	T	T	C
Q1a2	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	G	G	G	G	T	T	C
Q1a2a1b	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	G	G	G	G	C	T	C
Q1a2a1a	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	G	G	G	G	T	G	C
Q1a2a1a1	1	G	T	G	C	C	T	A	T	C	A	A	C	G	G	T	T	G	G	G	G	T	G	T

2.4 Secuenciación

Con el fin de estudiar la diversidad dentro del clado Q, aquellas muestras que resultaron derivadas para M242 pero no portaban la transición característica del marcador M3 fueron analizadas por secuenciación. A partir de los datos publicados en los sitios on-line Family Tree DNA (<https://www.familytreedna.com>) e ISOGG (<http://www.isogg.org/>), se seleccionaron una serie de marcadores derivados para M242 pero filogenéticamente anteriores a M3 y M346 (Tabla 7). Los portales referidos son fuentes de información que presentan las actualizaciones más recientes en la filogenia del cromosoma Y, basada tanto en estudios académicos como en información genética proveniente de individuos interesados en genealogía.

Tabla 7. Marcadores elegidos para analizar la diversidad del linaje Q: nombre, código de referencia SNP ID, posición en el cromosoma y fuente bibliográfica.

código rs	SNP	2013(GRCh38)/hg38	Referencia
	P36.2	12384646	YCC,2002
	P89.1	12738531	INTERNATIONAL SOCIETY OF GENETIC GENEALOGY
	F1096	8219532	INTERNATIONAL SOCIETY OF GENETIC GENEALOGY
	NTW01	3020042	Dulik <i>et al.</i> 2012
	M25	21295390	Underhill <i>et al.</i> 2001
	L565	16984504	INTERNATIONAL SOCIETY OF GENETIC GENEALOGY
	M120	21336120	Underhill <i>et al.</i> 2001
rs13447377	M323	19705832	Shen <i>et al.</i> 2004
rs34724285	L53	19480410	FAMILY TREE DNA
rs34954951	L54	21130896	FAMILY TREE DNA
rs34549365	L213	8306992	INTERNATIONAL SOCIETY OF GENETIC GENEALOGY
	L456	8367023	FAMILY TREE DNA
	L718	17054795	FAMILY TREE DNA
	L940	6978239	FAMILY TREE DNA
	L191	3019338	FAMILY TREE DNA
	L334	13860805	FAMILY TREE DNA
	CTS2730	13827969	INTERNATIONAL SOCIETY OF GENETIC GENEALOGY
	CTS11969	21229412	INTERNATIONAL SOCIETY OF GENETIC GENEALOGY

Para este grupo de marcadores se diseñaron cebadores que aparean a una distancia de 300-400 pb de los polimorfismos (las posiciones de las mutaciones fueron asignadas teniendo en cuenta el ultimo alineamiento de la secuencia completa del genoma humano hecho por el *Consorcio de Referencia del Genoma* (GRC) 2013

(GRCh38)/hg38) empleando el programa Primer3 (Srozen y Skaletsky 2000). En la tabla 8 se detalla la secuencia de los cebadores.

Tabla 8. Oligonucleótidos empleados para la caracterización por secuenciación.

SNP	Secuencia	Concentracion pmol/10uL	Tamaño del amplicon
P36.2	F: AGCATCTCCACACAGCACAC	2.5	629
	R: CATCCATCTACCTACATACCTGTCA	2.5	
P89.1	F: GGAGACATGTTTTATTTGCTTT	2.5	829
	R: TCCTCTTTCAATAATTGTTCTTT	2.5	
F1096	F: ACAGCCAAGGCATTAGAAGG	2.5	638
	R: TGTTTTCAACTGGACCTTGC	2.5	
NWT01	F: TTTTGTCAATGGGAAAGGAC	2.5	688
	R: AAACCCCGCTTTCAGGTAAT	2.5	
L565	F: TTACGAAGCCTGGTTCAGTG	2.5	679
	R: TCAGTCTCCTCCCAGCAAGT	2.5	
M323	F: AGGAGAAAGCAGACCGTGAA	2.5	608
	R: AGACCCAAGGGGAGAAAAGA	2.5	
L53	F: TGTTTGCCCAAAATTAACCA	2.5	388
	R: TTAAATGACCCCCTGAGTGC	2.5	
L213	Lo encontramos en el fragmento secuenciado para L456		
L456	F: CACCCGGATCAAAAGGAGTA	2.5	627
	R: GCAGTGGCAACAAAATTCAA	2.5	
L718	F: GGGGTCTCACACCTGGATAA	2.5	643
	R: TTTTGGGGTGGATATTGGA	2.5	
L940	F: CCACCACCCAAATAGGCTAC	2.5	649
	R: ATTTTGCATGAGGACGAAGC	2.5	
L191	F: GGCCTGAAAATGTGGAAAGA	2.5	473
	R: CCTGGTGTTCCTCCTCAT	2.5	
L334	F: GATCCTGCCCATTGTTGAGT	2.5	557
	R: TCACAATCTCCCCTCTGGTC	2.5	
CTS2730	F: GCTCCACGGCTTATTCTCAA	2.5	725
	R: GCTCCAGATTGAGTTTTGCT	2.5	
CTS11969	F: GAGGCAAGGTCATGTCACAG	2.5	617
	R: TTGGCACAAACGTCATCATT	2.5	

Los marcadores L54, M25 y M120 se analizaron por RFLPs (Tabla 9)

Tabla 9. Oligonucleótidos, enzima y tamaño de los fragmentos empleados para la caracterización por RFLP.

SNP	Primer	Fragmento	Enzima	Ancestral	Fragmentos
L54	F: TTGTTTGTGACCCCGTTTT R: ATTGCTGCTTTTGCTCCACT	485	<i>MnII</i>	A	A 218-146-59-62/ G 364-59-62
M25	F: CACACAAAACAAGAACCGTGA R: GCACTGACACAAGTTATCTCCC	172	<i>EcoR I</i>	G	G 82-88 / C 18-64-88
M120	F: TGGACAGATTACAGTAAACCTTCAAC R: GTATAATTTCCCTTAAAAACATCATG	123	<i>BspHI</i>	T	T 100-23 / C 123

Las muestras se analizaron por grupos de la siguiente manera:

- Las que presentaron el carácter ancestral tanto para M3 como para M346 fueron analizadas por secuenciación con los marcadores P36.2, P89.1, NTW01, F1096, L565 (grupo1), y por RFLP con M25 y M120
- Las muestras que presentaron el carácter derivado para M346 pero ancestral para M3 se analizaron por secuenciación con los marcadores M323, L53, L213; L54 y L940 (grupo 2). A estas muestras se sumaron también las de las poblaciones aborígenes Lengua y Ayoreo analizadas previamente por nuestro equipo (Bailliet *et al.* 2009).
- Finalmente, las muestras en las que se detectó el alelo derivado para todos los marcadores del grupo 2 fueron analizadas por secuenciación con L718, L456, L334, L333, L191, CTS11969 y CTS2730 (marcador sinónimo Z780) (grupo 3).

Para los análisis de las frecuencias de los sub-haplogrupos del linaje Q que no presentaron el estado derivado para M3, se tuvieron en cuenta los resultados totales de las muestras analizadas por nuestro grupo de investigación (Bailliet *et al.* 2009; Schwab M., tesis doctoral en curso). En la figura 6 se grafica las relaciones filogenéticas de los polimorfismos analizados por secuenciación dentro del clado Q.

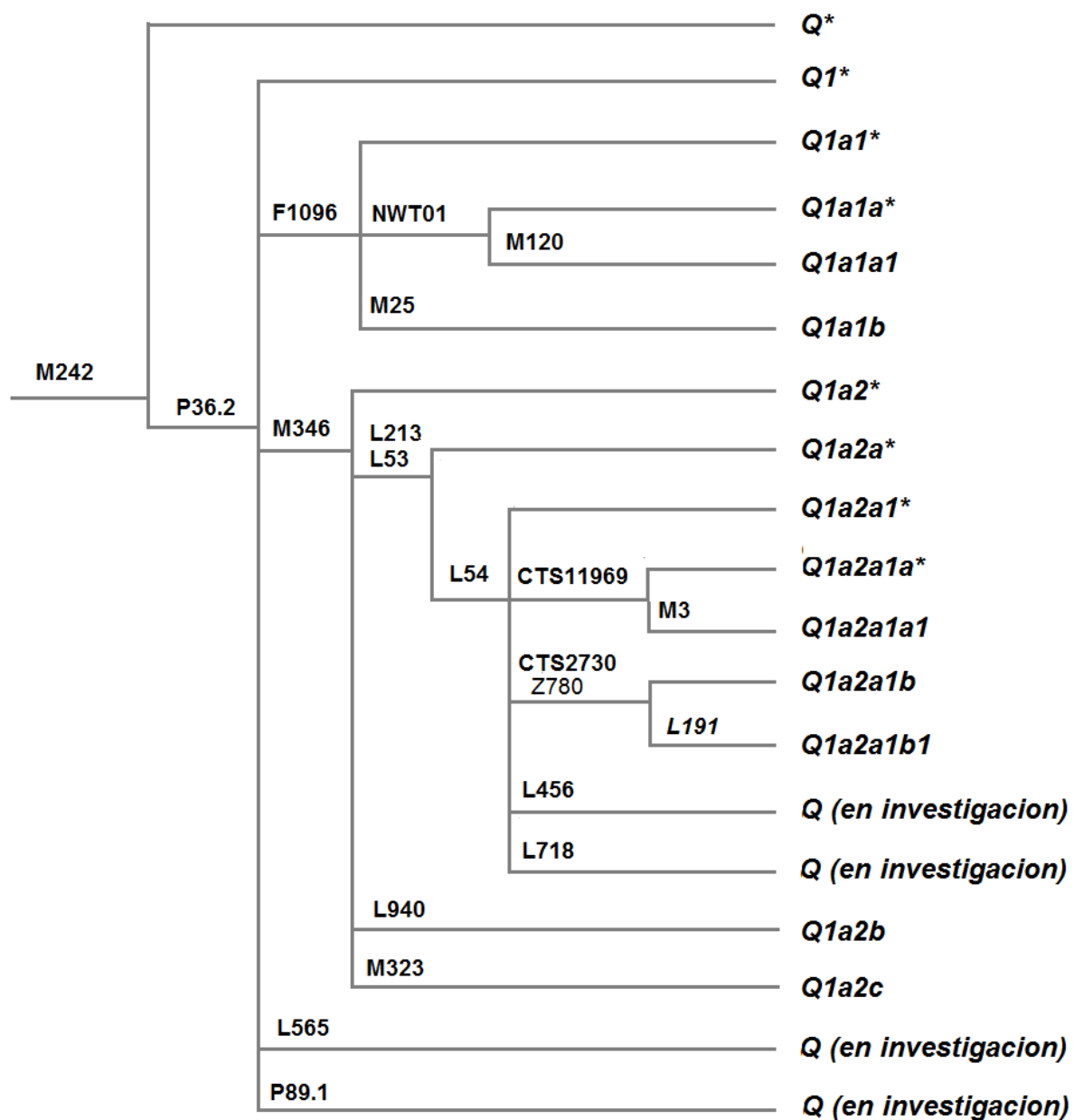


Figura 6. Polimorfismos analizados por secuenciación dentro del clado Q M242 y su relación filogenética.

La abreviatura de grupo en investigación (Invest) es empleada para los polimorfismos a los cuales el ISOGG no ha asignado un haplogrupo dado a que está en investigación.

2.5 Alineamiento

Las secuencias fueron alineadas con el programa MEGA 4.0 (Tamura *et al.* 2007), mediante el algoritmo ClustalW.

2.6 Diferenciación de haplotipos

Todas las muestras asignadas a Q-M242 fueron analizadas para 17 microsatélites de los *kits* Yfiler® y AmpFLSTR® (DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS385 a/b, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, Y GATA, DYS437, DYS438, DYS448), en el Analizador Genético ABI 3130 (Life Technologies) y siguiendo las recomendaciones de los representantes técnicos. En la tabla 10 se muestran con detalle los loci analizados y sus características.

Tabla 10. Loci del Kit Yfiler, se presenta también la escala alélica de cada marcador, el genotipo de ADN control 007 y el tinte correspondiente a cada loci.

Locus	Alelos Incluidos en el Kit Yfiler Allelic Ladder	Tinte	Genotipo del ADN control 007
DYS456	13 - 18	6-FAM™	15
DYS389I	10 - 15		13
DYS390	18 - 27		24
DYS389II	24 - 34		29
DYS458	14 - 20	VIC®	17
DYS19	10 - 19		15
DYS385 a/b	7 - 25		11,14
DYS393	8 - 16	NED™	13
DYS391	7 - 13		11
DYS439	8 - 15		12
DYS635	20 - 26		24
DYS392	7 - 18		13
Y GATA H4	8 - 13	PET®	113
DYS437	13 - 17		15
DYS438	8 - 13		12
DYS448	17 - 24		19

Este kit de microsatélites también fue analizado en las muestras del haplogrupo M242 caracterizadas en poblaciones aborígenes que previamente estudiadas por el grupo de Genética Molecular Poblacional del IMIBICE.

2.7 Métodos de análisis

Los cálculos y los gráficos de las frecuencias se llevaron a cabo mediante conteo directo empleando las herramientas del software “Microsoft Excel” (versión 2010). Para los gráficos de las frecuencias de los sub-haplogrupos, se tomó el total de individuos de cada haplogrupo como el 100%, de esta manera se expone claramente la frecuencia de cada sub-haplogrupo dentro de cada linaje.

Las frecuencias de haplogrupos y haplotipos se analizaron mediante el programa Arlequín 3.0. calculando:

- ✓ Diversidad haplotípica, que se define como la probabilidad de que dos alelos, seleccionados al azar en una muestra, sean diferentes entre sí, se estudió empleando la fórmula de Nei (1987). Mientras mayor sea esta probabilidad, más diversa será la muestra y, por ende, también la población de la que fue tomada (Nei et al. 1972).
- ✓ la variabilidad entre y dentro de las poblaciones (Excoffier et al. 2005), calculando AMOVA (subdivisión jerárquica de la varianza) para comparar los distintos grupos y para medir el grado de diferenciación de las poblaciones se tuvo en cuenta los valores de F_{st} (Excoffier et al. 1992).
- ✓ Los índices de F_{st} miden el grado diferencial de variación genética entre las poblaciones y compara el promedio de diversidad genética encontrado dentro de cada una en relación a una población mayor. Cada localidad se considera como una población dentro de un grupo principal. Los valores de F_{st} varían entre 0 y 1. Cuando el flujo génico es alto y existe poca diferenciación entre dos poblaciones, se aproxima a cero.
- ✓ El índice R_{st} es el análogo molecular de los F_{st} , basado en el modelo de mutación gradual y es específico para microsatélites ya que propone que cuando mutan los microsatélites ganan o pierden una sola repetición en tandem. Esto implica que dos alelos que difieren en una sola repetición están más relacionados (tienen un ancestro común más reciente) que alelos que difieren en varias repeticiones. En otras palabras, el tamaño del fragmento importa al realizar cualquier análisis estadístico (Demarchi et al 2009)

Para los test estadísticos, la probabilidad de cada valor se calculó por re muestreo (100.000 permutaciones), estableciéndose el valor de significancia en $p < 0,05$.

Las relaciones genéticas entre las muestras se evaluaron mediante un método de ordenación de Análisis de Componentes Principales (ACP). Este análisis de ordenación permite la construcción de un mapa génico bi o tridimensional donde es posible proyectar, simultáneamente, muestras y variables. Por último, con el objetivo de comparar los resultados obtenidos con ACP, se aplicó el método denominado escalamiento multidimensional no-métrico (Nonmetric Multidimensional Scaling - MDS) (Kruskal, 1964). Este método permite representar gráficamente las relaciones entre n muestras en un espacio de k -dimensiones de modo tal que las distancias entre las muestras correspondan tanto como sea posible a las distancias calculadas entre ellas. El MDS es un método iterativo de búsqueda para la ordenación y ubicación de n entidades en k dimensiones (ejes) que haga mínimo el "*stress*" en la configuración final k -dimensional. "*Stress*" es un concepto que se refiere a la magnitud de la desviación entre las distancias existentes entre los puntos en el espacio original p -dimensional y las distancias en el espacio reducido de ordenación k -dimensional. El rango del stress va de 0 a 1, sugiere la siguiente evaluación para los niveles de stress alcanzados en la configuración final: 0,40 pobre; 0,20 regular; 0,10 bueno y 0,05 excelente. Estos cálculos se llevaron a cabo empleando el programa estadístico NTSYS-pc versión 2.11s (Exeter Software) (Tamura *et al.* 2007).

Para determinar si había correlación (r) entre las distancias genéticas calculadas a partir de los Rst y las distancias geográficas entre pares de poblaciones, se utilizó el test de Mantel (Mantel 1967), prueba que mide las posibles relaciones entre todos los puntos de dos matrices y calcula su correlación. Un valor de r positivo y significativo sugiere la existencia en la región estudiada del fenómeno de aislamiento por distancia. El coeficiente de correlación varía entre -1 y 1 dependiendo del ajuste entre ambas. Con el objetivo de profundizar sobre la estructura espacial de la variación genética también hicimos un análisis de auto-correlación espacial (Cliff y Ord, 1973; Sokal y Oden, 1978, Griffith, 1987), que permite comparar las distancias genéticas y las geográficas fragmentando el espacio en intervalos de distancia, es muy útil para estudios como el nuestro donde trabajamos con regiones muy grandes, ya que al subdividir el espacio permite analizar la diferenciación a un nivel más detallado. La

significación estadística de la correlación entre matrices se obtuvo a través de un test de permutación usando 9999 repeticiones. Las distancias geográficas fueron estimadas a partir de las coordenadas (longitud y latitud) centrales del rango geográfico de cada localidad. Estos cálculos se llevaron a cabo empleando el programa PASSaGE2 (por su siglas en inglés Pattern Analysis, Spatial Statistics and Geographics Exegesis) (Rosenberg y Anderson 2011).

Se estimaron barreras para el flujo génico con el programa BARRIER 2.2, a partir de las distancias genéticas basadas en Rst y se diagramó el patrón geográfico de distribución de frecuencias. Este programa realiza una aproximación geométrica del área geográfica atribuyendo un área específica a cada punto de muestreo, identifica los pares de localidades adyacentes que presentan mayor diferenciación y comienzan a trazarse las barreras genéticas. El programa diagrama las barreras identificando pares de localidades adyacentes que presentan mayor diferenciación y comienzan a trazarse las barreras genéticas. Una vez iniciada, la barrera continúa por la línea de mayor debilidad, es decir por aquel límite continuo que ostente la mayor diferenciación entre las localidades que separa. De esta manera, el orden de importancia de las barreras identificadas radica en la diferenciación entre el par de localidades que lo inició y no necesariamente entre cada par de localidades a uno y otro lado de la barrera (Manni *et al.* 2004).

Los cálculos de comparación entre distancias geográficas y distancias genéticas se hicieron todos con las distancias basadas en Rst, por presentar un modelo de mutación gradual y ser el que más se ajusta a los estudios con microsatélites.

A partir de los haplotipos de STRs se construyeron redes “median joining” o redes medianas, implementado en el programa Network versión 4.6.0.0. (fluxusengineering.com Bandelt *et al.* 1999). Este algoritmo produce los árboles más parsimoniosos de un grupo de datos en forma de una red única e informa acerca de la frecuencia de cada haplotipo observado. A través de la aplicación del método “median joining” (Foster *et al.* 2001) se generan haplotipos hipotéticos o vectores medianos más probables (frecuentemente ancestrales), necesarios para conectar los haplotipos existentes dentro de la red. A cada marcador se le asignó un peso considerando su tasa mutacional (Muzzio *et al.* 2010). Finalmente para evaluar los pasos mutacionales

que están separando los haplotipos, también empleando el programa Network se generaron gráficos de la distribución “Mismatch” o pares de diferencias, es otro modo de representar la diversidad molecular para datos cuyas diferencias entre alelos sean discretas, en el caso particular de los microsatélites, con diferencias en el número de las repeticiones. De esta manera los haplotipos de cada linaje, se comparan por parejas y se calcula el número de diferencias, entonces si comparamos “n” haplotipos el total de comparaciones será: $n(n-1)/2$ y a partir de estas comparaciones se construye un histograma que relaciona la frecuencia observada para cada número de diferencias encontradas. Dependiendo de la forma que toma la distribución “Mismatch”, se puede hacer inferencias respecto al comportamiento de las muestras comparadas de la siguiente manera:

- si el grafico tiene una distribución normal o de campana, está indicando el paso por un período de crecimiento rápido a partir de una o unas pocas variantes.
- y un gráfico con una distribución multimodal o errática indicaría un grupo de tamaño que ha sido constante durante largo tiempo.

La variación de la distribución de frecuencias de los sub-haplogrupos de cada linaje sobre el mapa, en las localidades muestreadas se hicieron con el programa Surfer 12, que emplea el algoritmo de Kriging (Golden Software, 2002), un método matemático de interpolación que permite predecir las frecuencias en los puntos intermedios de muestreo. Los gráficos fueron editados con el programa CorelDRAW X5, excluyendo las provincias que hacen parte de otras regiones no analizadas en el presente trabajo. En el caso de los gráficos para los sub-haplogrupos del linaje Q, se consideraron las provincias intermedias entre las regiones muestreadas y las localidades de donde provenían los individuos de Lengua y Ayoreo.



3. Resultados

3.1 Frecuencia de los haplogrupos del cromosoma Y

En el total de la muestra, la mayor frecuencia corresponde a los sub-haplogrupos alóctonos del clado R (Tabla11), seguido por Q, el para-grupo F y E.

El haplogrupo R (40,6%) fue el más frecuente en el total de la muestra. Dentro de este clado, el sub-haplogrupo mayoritario fue R1b1b (31,9%), R1a estuvo representado en varias de las localidades pero con una frecuencia más baja (0,7%). No se encontró ninguna muestra perteneciente a R1b1c. El 7,9% que se asignó a R1* corresponde a las muestras dentro del haplogrupo R1 que no pudieron ser tipificadas para las restantes mutaciones. El siguiente haplogrupo más frecuente fue Q (25,4%), dentro de este linaje el 22,7% se clasificó como Q1a2a1a1, seguido por Q1a2a1b (1,8%). Los sub-haplogrupos Q1 y Q1a2 tuvieron la misma frecuencia (0,2%) y Q1a1b el valor más bajo (0,1%). El grupo de individuos ancestrales para M9, tuvo una frecuencia similar a la del haplogrupo Q (20,8%). Dentro del clado FT, el sub-haplogrupo J2 se identificó en una frecuencia de 8,5%, J1 y G2 están representados en similares proporciones (3,1% y 3%, respectivamente). No encontramos en nuestras muestras individuos con las variantes diagnósticas de los sub-haplogrupos del clado I y el sub-haplogrupo G1, el 6,2% de las muestras corresponden al haplogrupo F(xG,I,J) pero no presentaron ninguno de los SNP del múltiplex III. El siguiente haplogrupo más frecuente fue E (9,5%) y finalmente el de más baja frecuencia K(xQ,R) (3,7%).

Tabla 11. Frecuencias (%) de los haplogrupos del cromosoma Y en cada una de las poblaciones estudiadas.

	La Quiaca	Maimará	Jujuy	Salta	Tucumán	Santa María	Belén	Catamarca	La Rioja	Chepes	Calingasta	San Juan	Lavalle	Mendoza	Malargüe
E	11	5	0	16	25	6	9	9	15	6	15	10	0	15	0
K(xQ,R)	3	7	8	4	0	6	0	4	3	3	5	4	3	0	2
F(XG,IJ)	8	4	3	1	8	10	19	1	6	16	10	5	17	9	10
G1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
G2	0	3	0	1	0	6	3	4	7	6	5	4	6	4	0
J1	3	2	3	2	0	6	3	0	2	0	0	6	0	6	10
J2	1	8	3	7	25	7	14	7	8	13	5	13	6	9	7
I1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
R1*	12	11	3	9	8	4	5	20	8	3	0	0	8	6	0
R1a	0	0	0	0	0	1	2	0	1	0	0	1	6	0	0
R1b	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
R1b1b	23	9	32	16	17	33	21	38	37	42	40	44	36	40	61
R1b1c	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0
Q1a1b	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Q1a2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
Q1a2a1b	0	2	5	1	0	1	5	2	1	0	15	3	0	0	2
Q1a2a1a	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q1a2a1a1	38	50	43	42	17	21	19	13	10	6	5	8	17	10	7
total	73	105	37	81	12	72	58	96	86	31	20	86	36	78	41

3.1.1 Distribución y frecuencia de los linajes.

3.1.1.1 Haplogrupo E

Este linaje presentó la mayor frecuencia en Tucumán (25%), mientras que las poblaciones de Salta, La Rioja y Mendoza tuvieron frecuencias intermedias que oscilaron entre el 15 %y 16%. En La Quiaca, Belén, Catamarca, Chepes y San Juan el porcentaje fue menor (entre 8% y 11%) y las frecuencias más bajas se encontraron en Santa María y Maimará (4,8% y 6,3%, respectivamente). Este haplogrupo estuvo ausente en las muestras correspondientes a las localidades de San Salvador de Jujuy, Villa Tulumaya y Malargüe (Figuras 7 y 8).

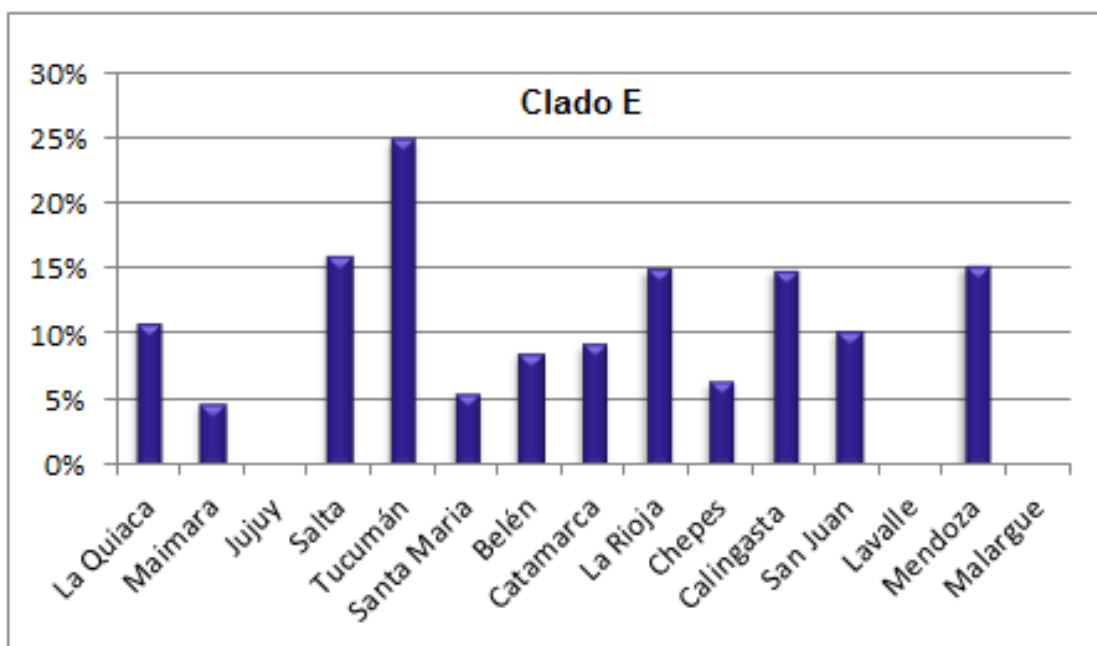


Figura 7. Frecuencia del haplogrupo E en las poblaciones muestreadas.

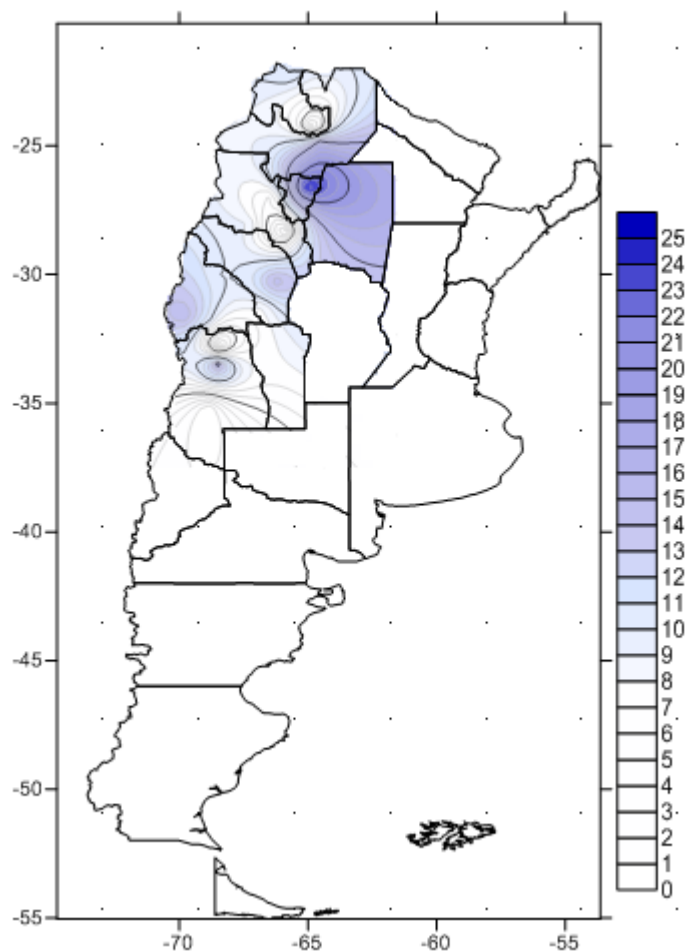


Figura 8. Distribución de las frecuencias del haplogrupo E en las poblaciones muestreadas y las frecuencias estimadas en los puntos intermedios no muestreados.

3.1.1.2 Para-grupo K (xQR)

Este grupo es el que estuvo menos representado en las muestras estudiadas. En las poblaciones de San Salvador de Jujuy, Maimará y Santa María registró valores entre 6% y 8%, mientras que en La Quiaca, Salta, Catamarca, La Rioja, Chepes, San Juan, Lavalle y Malargüe las frecuencias oscilaron entre 2% y 4%. Este linaje estuvo ausente en las poblaciones de Tucumán, Belén y Mendoza (Figuras 9 y 10).

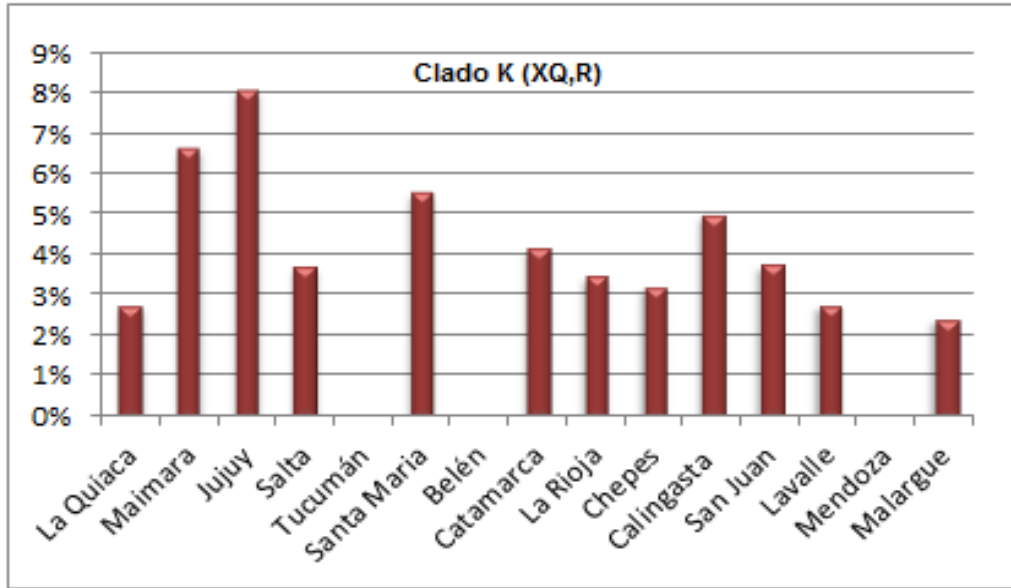


Figura 9. Frecuencia del para-grupo K (xQR) en las poblaciones muestreadas.

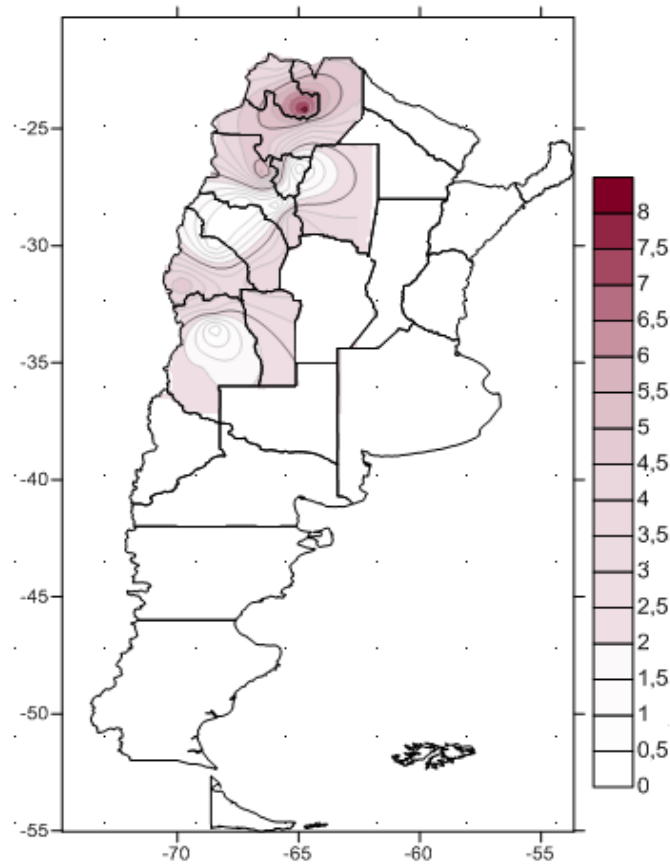


Figura 10. Distribución de las frecuencias del haplogrupo K en las poblaciones muestreadas y las frecuencias estimadas en los puntos intermedios no muestreados.

3.1.1.3 Para-grupo F

El sub-haplogrupo más frecuente fue J2. En Tucumán presentó una frecuencia alta (75%), seguido por Salta y Catamarca (60% y 58%, respectivamente), mientras que La Quiaca presento la menor frecuencia para (11,1%). J1 es el siguiente sub-haplogrupo más frecuente, se identificó en el 50% de las muestras, en Malargüe y en La Quiaca fueron las únicas poblaciones donde presentó mayor frecuencia que J2. No se encontró J1 en Tucumán, Jujuy, Lavalle ni Catamarca. El sub-haplogrupo G2 presentó la frecuencia más alta en La Rioja y en Catamarca con 30% y 33% respectivamente. En las demás poblaciones se encontró entre 20% y 23%, estando ausente en algunas localidades del NOA y Cuyo: Tucumán, Jujuy, La Quiaca y Malargüe. No encontramos en nuestras muestras individuos pertenecientes a los sub-haplogrupos I1 ni G1. Una fracción de las muestras, en algunos casos alta (mas de 60%) no fue diagnosticada con ninguno de los marcadores que analizamos (Figuras 11 y 12).

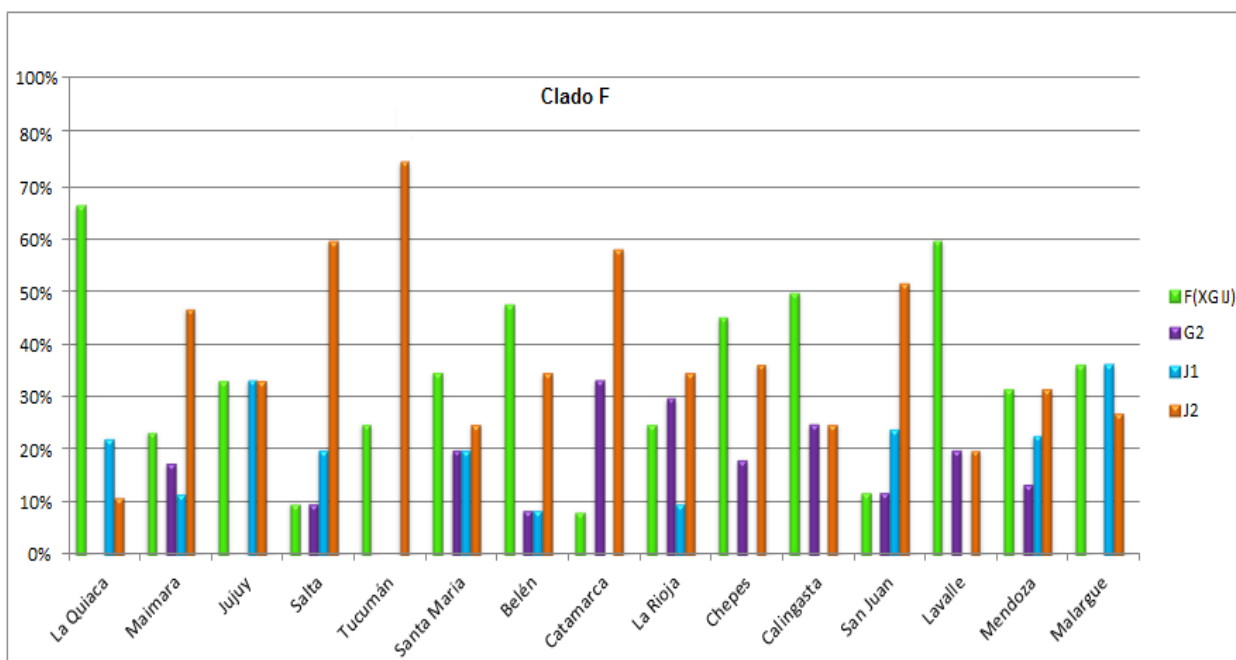


Figura 11. Frecuencia de los sub-haplogrupos del linaje F en las poblaciones muestreadas.

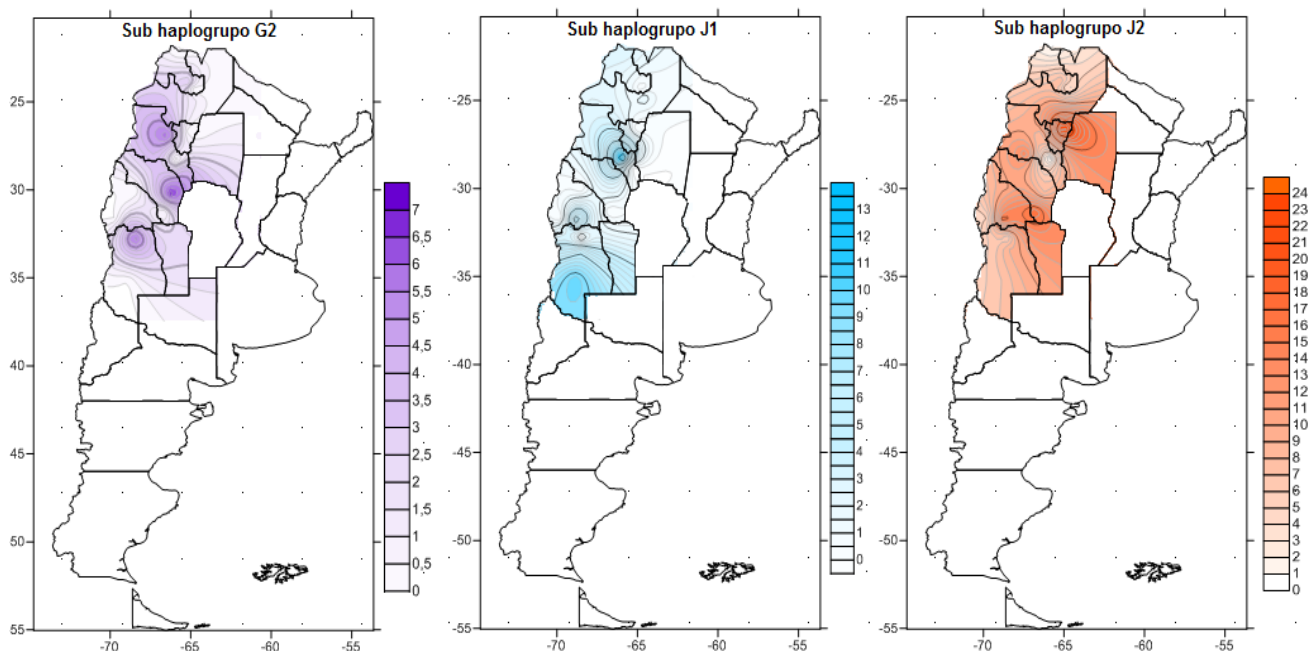


Figura 12. Distribución de las frecuencias de los sub-haplogrupos del linaje F encontrados en las poblaciones muestreadas y las frecuencias estimadas en los puntos intermedios no muestreados.

3.1.1.4 Haplogrupo R

Es el haplogrupo alóctono de mayor frecuencia en las poblaciones americanas cosmopolitas. En nuestras muestras observamos poca diversidad dentro de este clado, encontrando que 78% del total de individuos R fue asignado al sub-haplogrupo R1b1b, como en el caso de las localidades pertenecientes a la región de Cuyo y la provincia de La Rioja. También se encontró el sub haplogrupo R1a, aunque con una frecuencia mucho más baja, en las poblaciones de Lavalle, San Juan, La Rioja, Belén, Santa María Catamarca, el para-grupo R1* fue encontrado en la mayoría de las poblaciones y los individuos fueron asignados a este cuando no pertenecían a ninguno de los sub-haplogrupos estudiados en el multiplex 5 (Figuras 13 y 14).

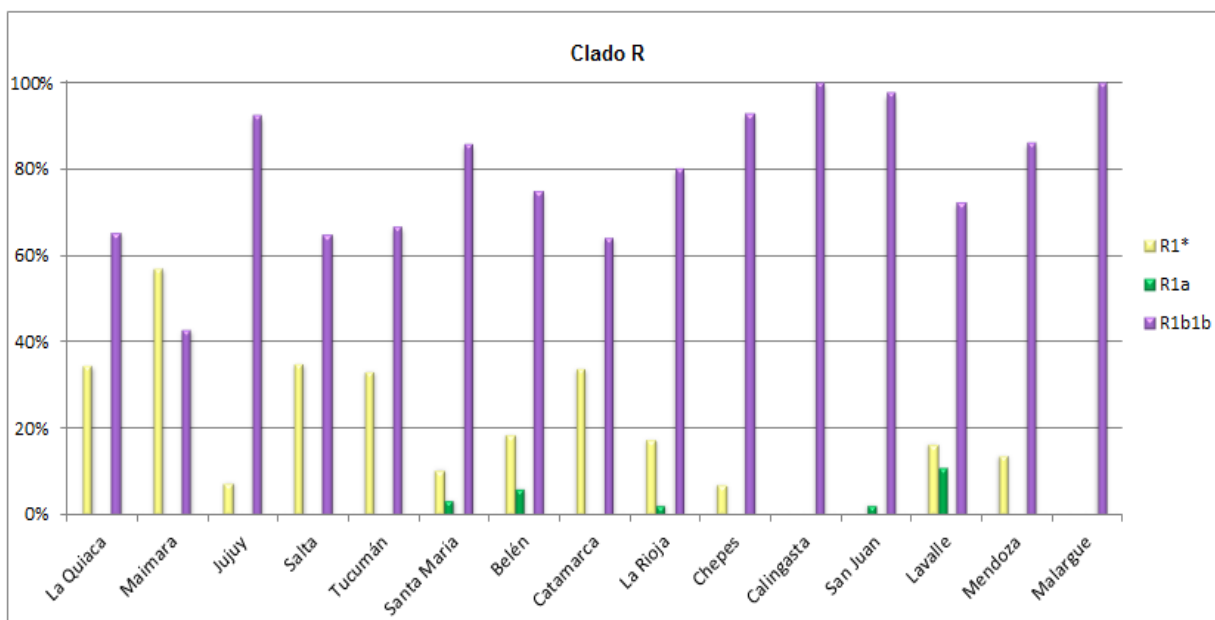


Figura 13. Frecuencia de los sub-haplogrupos del linaje R en las poblaciones muestreadas

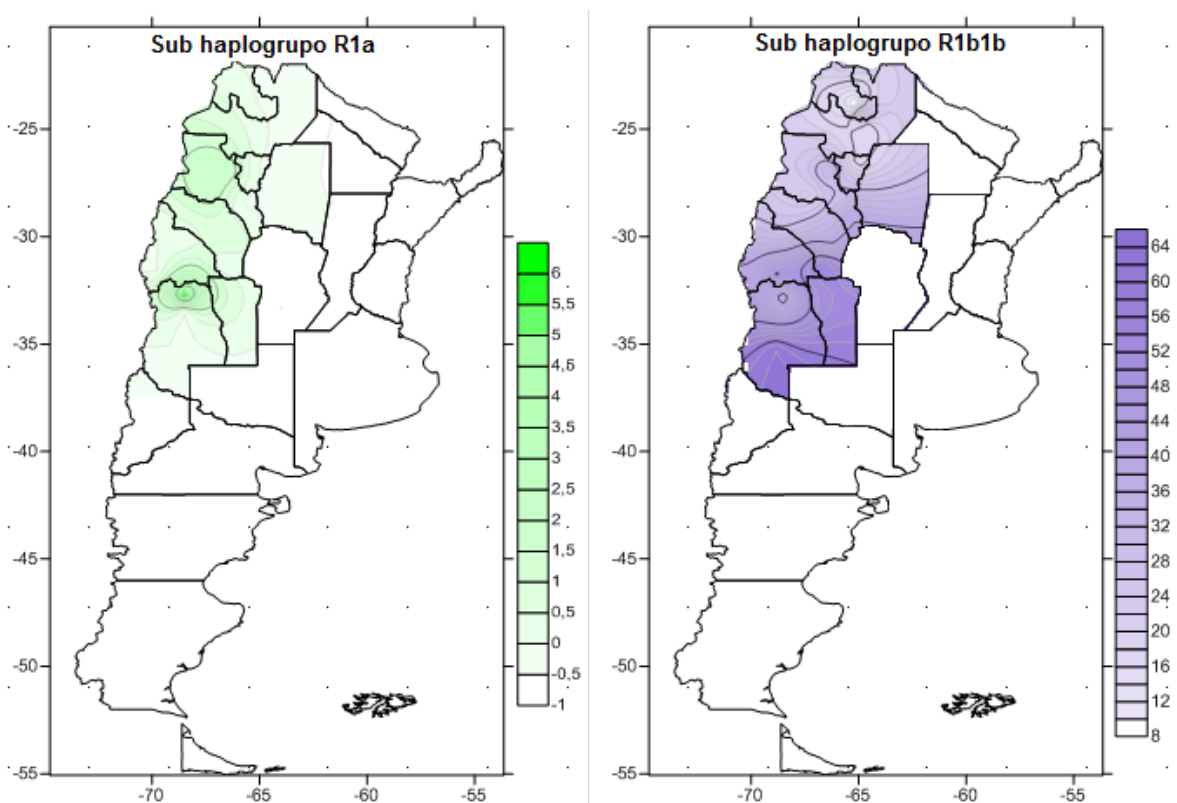


Figura 14. Distribución de las frecuencias de los sub-haplogrupos del linaje R encontrados en las poblaciones muestreadas y las frecuencias estimadas en los puntos intermedios que no muestreados.

3.1.1.5 Haplogrupo Q

Tucumán, Maimará, La Quiaca, San Salvador de Jujuy y Salta fueron las localidades del NOA donde el sub-haplogrupo Q-M3 (Q1a2a1a1) (autóctono americano) presentó mayor frecuencia, los demás sub haplogrupos del clado Q estuvieron distribuidos con diferentes frecuencias en todas las localidades muestreadas. Q1* estuvo representado mayoritariamente en San Juan y Q1 se encontró solo en dos muestras: una proveniente de Chepes y la segunda en Lavalle (Figuras 15, 16 y 17) Para la caracterización de los sub-haplogrupos del Q se incluyeron muestras de poblaciones aborígenes analizadas previamente en nuestro laboratorio, junto con muestras de Santiago del Estero (Schwab M, tesis doctoral en curso).

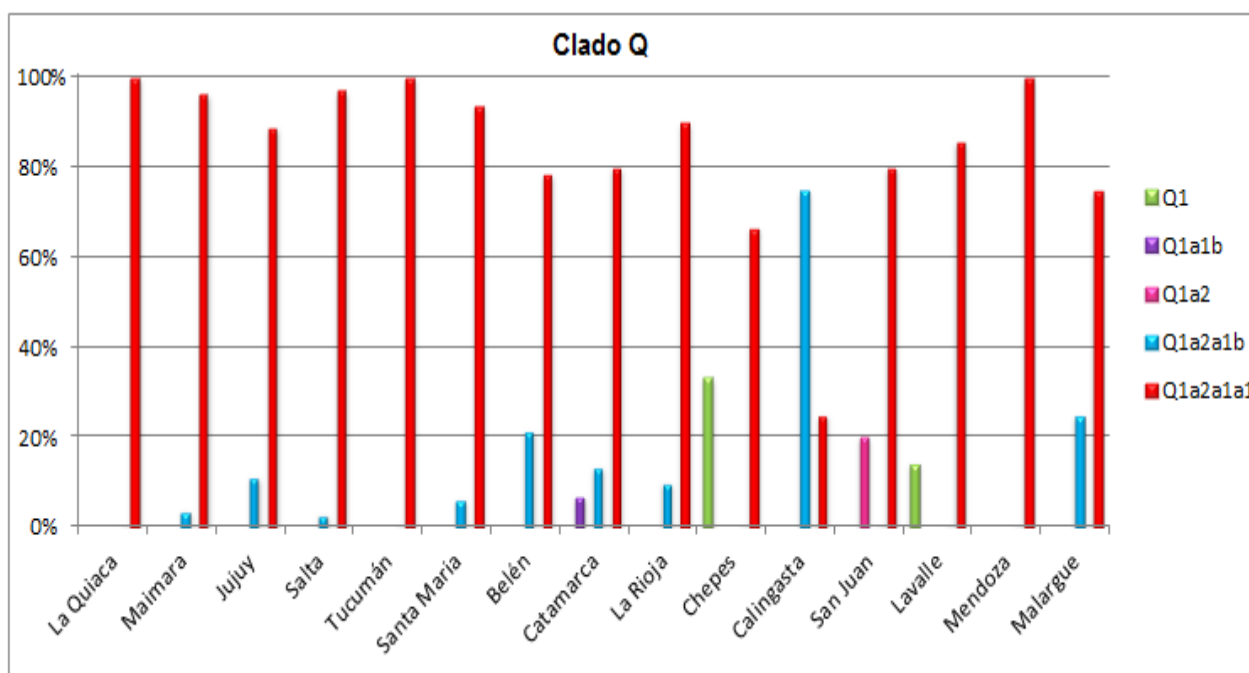


Figura 15. Frecuencia de los sub haplogrupos del linaje Q en las poblaciones muestreadas

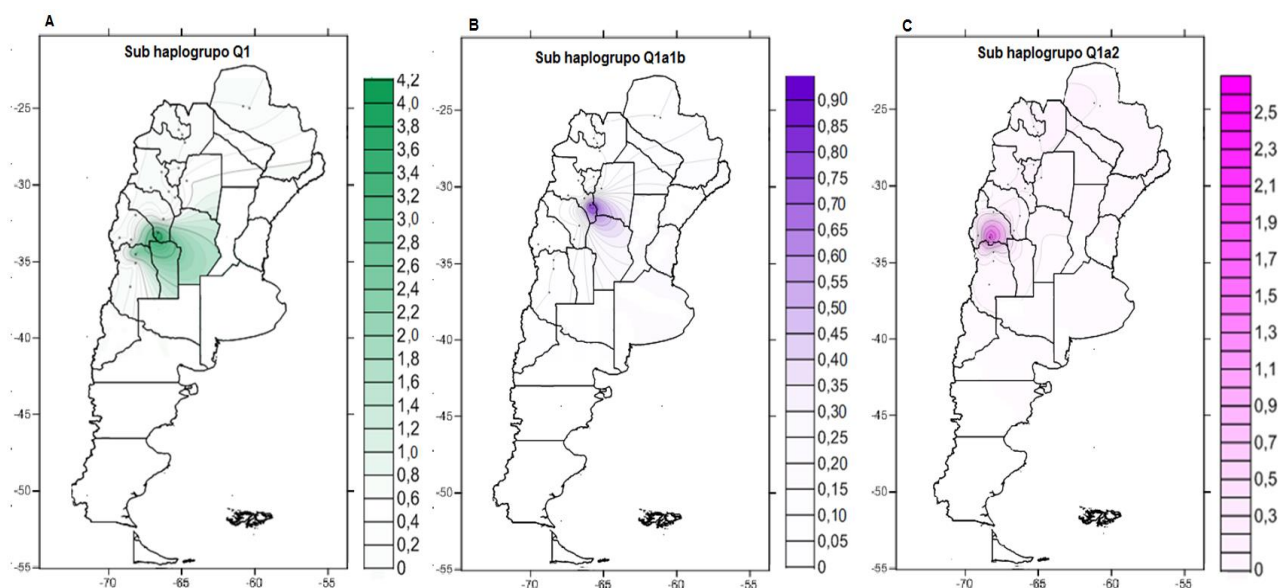


Figura 16. Distribución de las frecuencias de los sub haplogrupos del linaje Q. En el recuadro (A) QM424 (x M346). (B) M25. (C) QM346 (x L54).

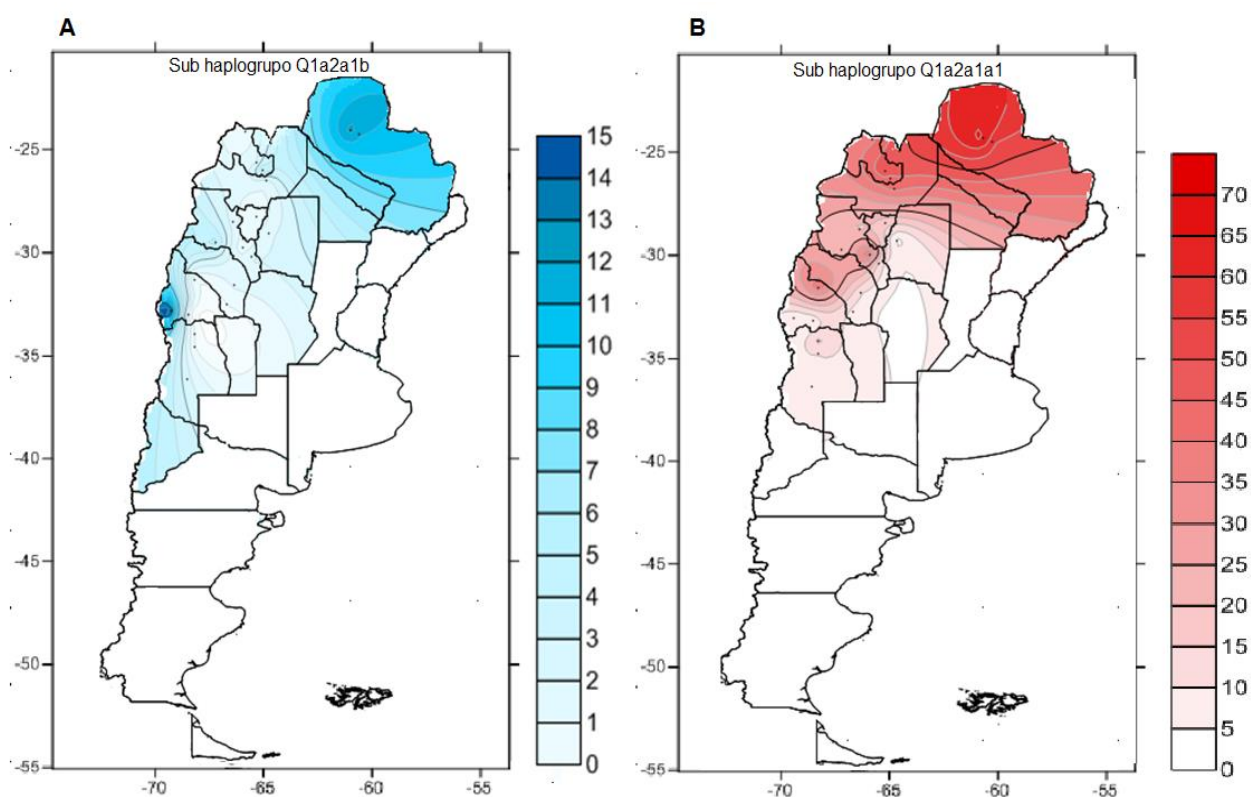


Figura 17. Distribución de las frecuencias de los sub haplogrupos del linaje Q. En el recuadro (A) el grupo definido CTS2730. (B) grupo autóctono definido por M3.

3.2 Secuenciación

De los 897 varones de las poblaciones urbanas estudiadas, 27 resultaron asignables al clado Q-M242 (xM3), es decir que fueron portadores del alelo derivado para M242 y presentaron a la vez el estado ancestral en M3. De este grupo, sólo 4 no fueron portadores de M346. A partir del análisis con el grupo 1 de marcadores encontramos que 3 de estos 4 individuos presentaron el estado derivado para P36.2 y el ancestral para los otros cinco marcadores analizados, lo que permite clasificarlos en el paragrupo Q1-P36.2 (xM346, F1096, L565, P89.1). La muestra restante, presentó el estado derivado para M25, quedando asignada al sub-haplogrupo Q1a1b.

Diecinueve individuos de poblaciones urbanas asignados a Q-M346 (xQ-M3) en este trabajo fueron analizados junto a otros ocho que provenían de las etnias Lengua y Ayoreo estudiados previamente (Bailliet *et al.* 2009) con el grupo 2 de marcadores, resultando dos individuos de poblaciones urbanas ancestrales para este grupo de marcadores, quedando así asignadas al sub-haplogrupo Q1a2.

Las 21 muestras restantes son derivadas para todos los marcadores antes mencionados y también para el marcador CTS2730 (sinónimo de Z780); resultando ancestrales para el resto de marcadores del grupo 3.

Adicionalmente dentro del fragmento analizado para L940 encontramos la inserción de una adenina en la posición 6978420 en todos individuos que presentaron el carácter derivado para P36.2, de tal manera proponemos la ubicación de esta inserción en la misma posición filogenética de P36.2. Los resultados obtenidos se resumen en la figura 18.

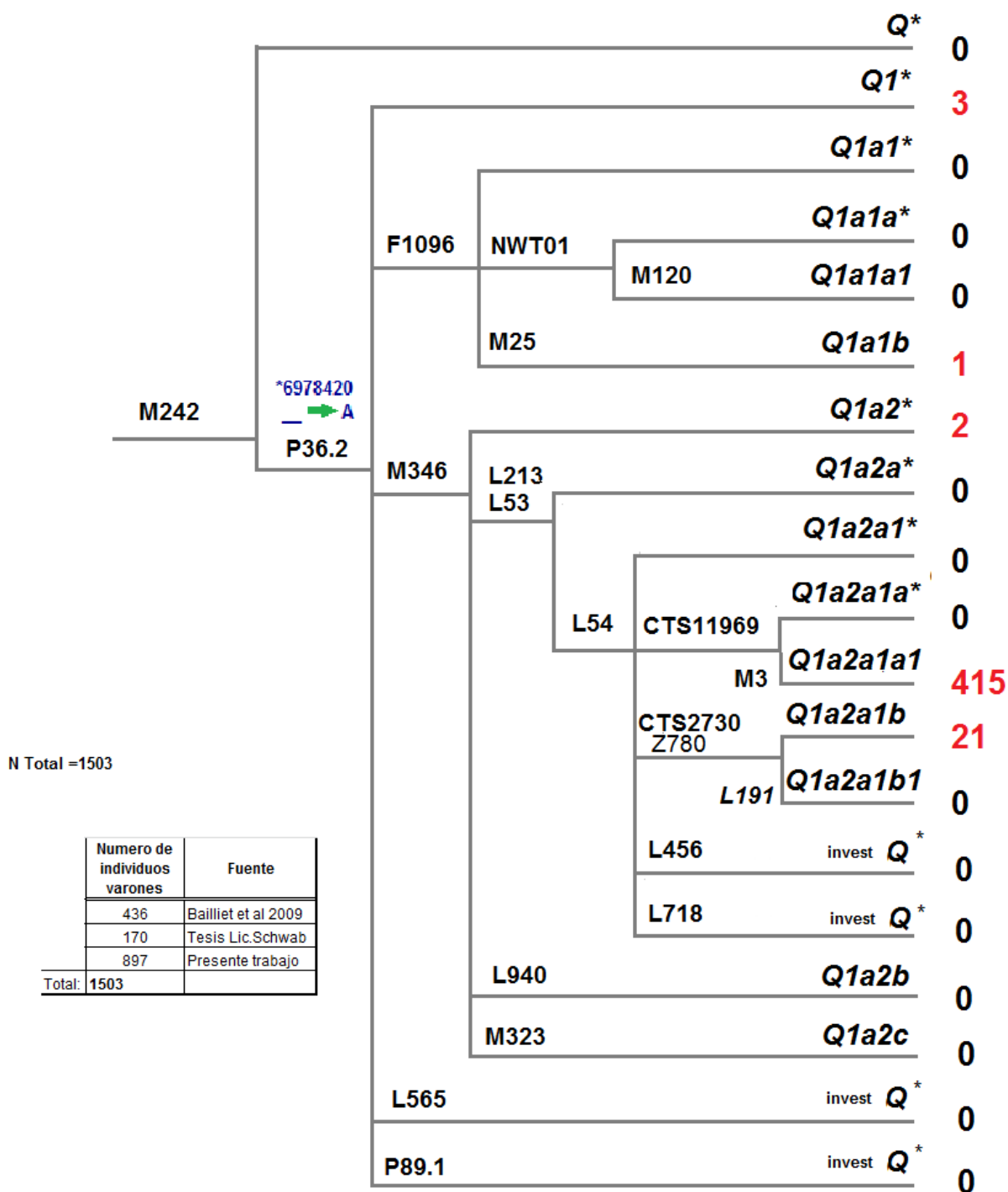


Figura 18. Resultados de los haplogrupos asignados a partir de secuenciación.

*La abreviatura de grupo en investigación (Invest) es empleada para los polimorfismos a los cuales el ISOGG no ha asignado un haplogrupo dado a que está en investigación.

3.3 Estructura genética encontrada a partir de frecuencias de haplogrupos

El índice de fijación ($F_{st}=0,06026$, $p = 0,00$) es considerado bajo, sugiriendo poca diferenciación entre las poblaciones (Wright 1978). La variación registrada es mayor entre individuos dentro de poblaciones y no entre ellas (Tabla 12). Sin embargo, el test exacto de diferenciación poblacional (Raymond y Rousset 1995) muestra que también existen diferencias significativas cuando se compara entre pares de poblaciones (Tabla 13).

Tabla 12. Amova de las frecuencias alélicas de los haplogrupos del cromosoma Y de todas las poblaciones analizadas

Fuente de Variación	G.L.	S.C.	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación
Entre poblaciones	16	26,675	0,02480	6,03
Dentro de las poblaciones	880	340,277	0,38688	93,97
Total	896	366,952	0,41157	
Índice de Fijación (F_{ST})	0,06026			

G.L.= Grados de libertad. S.C.= Suma de cuadrados

Tabla 13. Test exacto de diferenciación poblacional entre pares de poblaciones - = $p>0,05$; + = $p<0,05$.

	LQ	MM	JUJ	SAL	TUC	SMA	BEL	CAT	LRJ	CHE	CAL	SJN	LV	MZA	MLG
LQ		+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MM	+		+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JUJ	-	+		-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+
SAL	-	-	-		-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TUC	-	+	+	-		-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
SMA	+	+	-	+	-		-	-	-	-	-	-	-	-	+
BEL	+	+	+	+	-	-		+	+	+	-	+	-	+	+
CAT	+	+	+	+	-	-	+		-	-	-	+	-	-	+
LRJ	+	+	+	+	-	-	+	-		-	-	-	-	-	+
CHE	+	+	+	+	-	-	+	-	-		-	-	-	-	-
CAL	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
SJN	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-		+	-	+
LV	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+		-	+
MZA	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-		+
MLG	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	

3.4 Distancias genéticas encontradas a partir de la frecuencia de los haplogrupos

A partir de la tabla 11 de frecuencias se llevó a cabo el análisis de componentes principales, encontrando que el 89,90% de la variabilidad está representada en dos componentes. En la figura 19, se puede observar que el componente 1 contiene el 70,64% de la variabilidad, este eje separa las localidades de Salta, San Salvador de Jujuy, Maimará y La Quiaca, de las poblaciones de la región Cuyo (Mendoza, Malargüe, Lavalle, San Juan capital y Calingasta) y algunas localidades del NOA (Santa María, Belén, Catamarca capital, La Rioja y Chepes). El componente 2 contiene el 19.26% de la variabilidad y este eje separa solo a Tucumán del resto de las poblaciones estudiadas, puede deberse a la particularidad de ser la población que presentó la mayoría de sus linajes pertenecientes a los haplogrupo J2 y E.

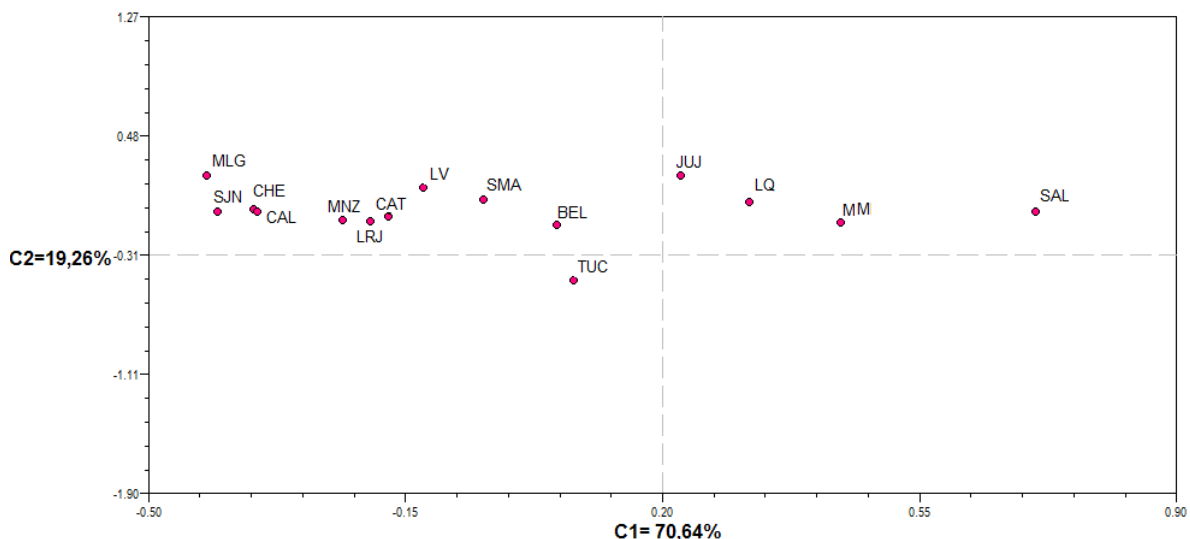


Figura 19. Análisis de Componentes principales (ACP) calculados a partir de las frecuencias de los haplogrupos.

Con el análisis de escalamiento multidimensional (MDS) obtuvimos una agrupación similar de las poblaciones pero con algunas variaciones (Anexo 5). Encontramos que las localidades del NOA se agrupan nuevamente, separándose a su vez de las poblaciones de Cuyo. Sin embargo, Catamarca capital y Belén se separan del grupo de Cuyo en el cuadrante 2. Con este método de ordenación obtuvimos un Final STRESS1 = 0,08214 valor que sugiere un buen ajuste según el rango propuesto por Kruskal (1964 a, b).

3.5 Haplotipos de microsatélites en linajes paternos nativos americanos

Con diecisiete marcadores de tipo STR's del cromosoma Y (DYS456, DYS389I, DYS390, DYS389II, DYS458, DYS19, DYS 385, DYS393, DYS391, DYS439, DYS635, DYS392, DYS GATA, DYS437, DYS438, DYS448) se tipificaron exitosamente 155 individuos pertenecientes al haplogrupo Q1a2a1a1, todas pertenecientes a poblaciones urbanas. La diversidad genética obtenida con microsatélites está ligada a la variabilidad que posee cada locus. Los sistemas DYS393 y DYS391 presentaron baja diversidad, con solo tres alelos en todas las poblaciones, mientras que DYS385 fue el más polimórfico.

Se encontraron en total 138 haplotipos diferentes, 14 de los cuales fueron compartidos entre individuos de la misma población y nueve entre poblaciones. (Anexo 6). A partir del análisis de varianza molecular, encontramos que el índice de fijación ($F_{ST}=0.011613$, $p = 0.28$) de las poblaciones fue bajo y no significativo, demostrando poca diferenciación entre las poblaciones (Wright 1978). La variación es atribuible principalmente a los individuos dentro de las poblaciones y no entre ellas (Tabla 14).

Tabla 14. Amova de las frecuencias alélicas de los haplotipos de todas las poblaciones analizadas

Fuente de Variación	G.L.	S.C.	Componentes de Varianza	Porcentaje de Variación
Entre poblaciones	11	4439,248	5,50300 Va	1,61
Dentro de las poblaciones	143	48005,836	335,70515 Vb	98,39
Total	154	52445,084	341,20815	
Índice de Fijación (R_{ST}) 0,01613				

G.L.= Grados de libertad. S.C.= Suma de cuadrados

Las distancias genéticas encontrada con los haplotipos de microsatélites en los individuos pertenecientes al linaje Q1a2a1a1 (Q-M3) muestran que la localidad más diferenciada del resto fue Chepes, mientras que Mendoza presentó la más alta variación intrapoblacional (Figura 20).

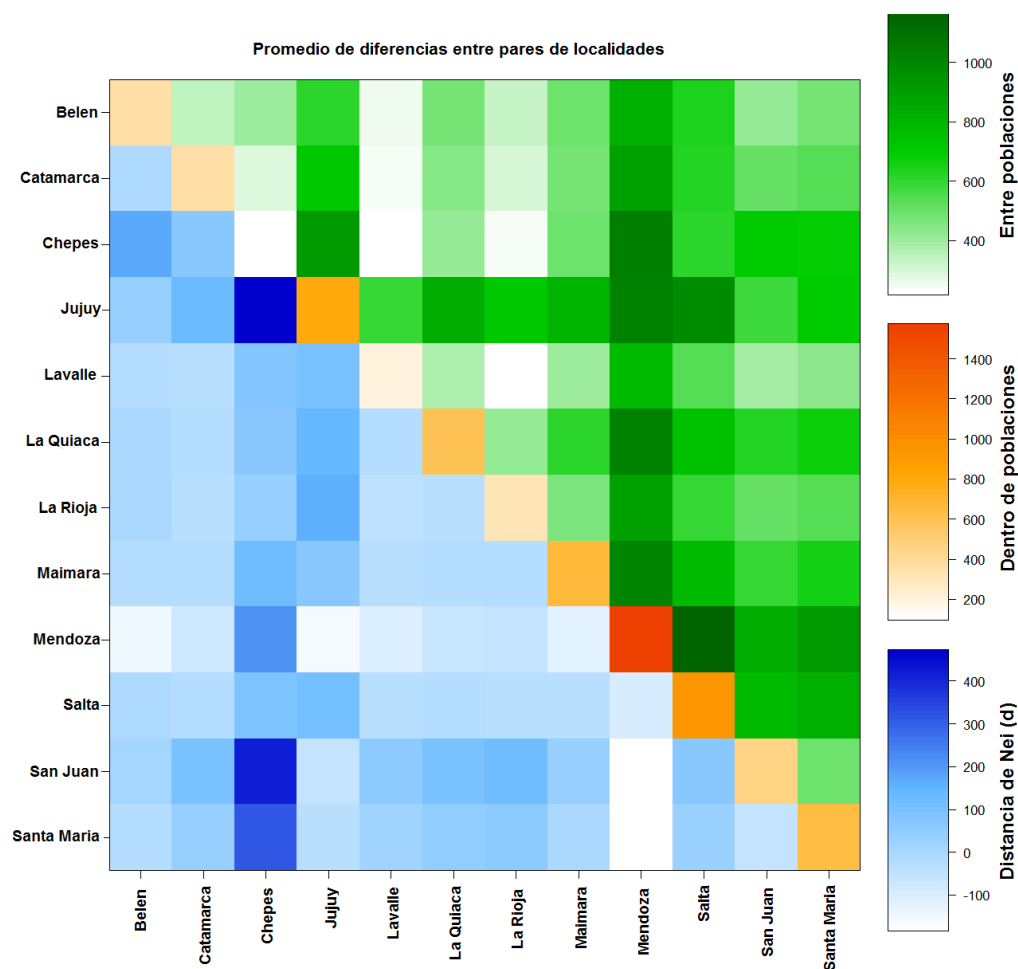


Figura 20. Matriz de distancias genéticas obtenida de microsatélites del cromosoma Y.

La relación entre las distancias genéticas calculadas a partir de los RST y las distancias geográficas fue evaluada por medio del test de Mantel el cual mostro un índice de correlación negativo y no significativo ($r = -0.21130$) lo cual sugiere que la diversidad genética de las poblaciones analizadas no se ajusta al modelo de aislamiento por distancia.

Los cálculos de barreras mostraron una barrera principal se generó entre Santa María las localidades adyacentes de Belén y Catamarca, separando así las localidades de la región de Cuyo, La Rioja, y el sur de Catamarca de Santa María, Salta y todas las localidades de la provincia de Jujuy. La segunda barrera calculada separo las localidades de la Puna, La Quiaca y Maimará del resto y la última barrera separo a Salta y todas las localidades de la provincia de Jujuy del resto (ver Discusión, Figura 24) que está separando las poblaciones de la región de Cuyo y las localidades del de Catamarca y La Rioja del resto, la segunda

barrera. La red de haplotipos calculada para el linaje QM3 (Q1a2a1a1) (Figura 21) no tiene representado el haplotipo nodal, algunas muestras del norte: Salta, Jujuy y Maimara están separadas del haplotipo nodal “estimado” por una o dos mutaciones. De igual manera la red calculada para los individuos pertenecientes al linaje Q1a2a1b tampoco encontramos el haplotipo ancestral en nuestras muestras (Figura 22).

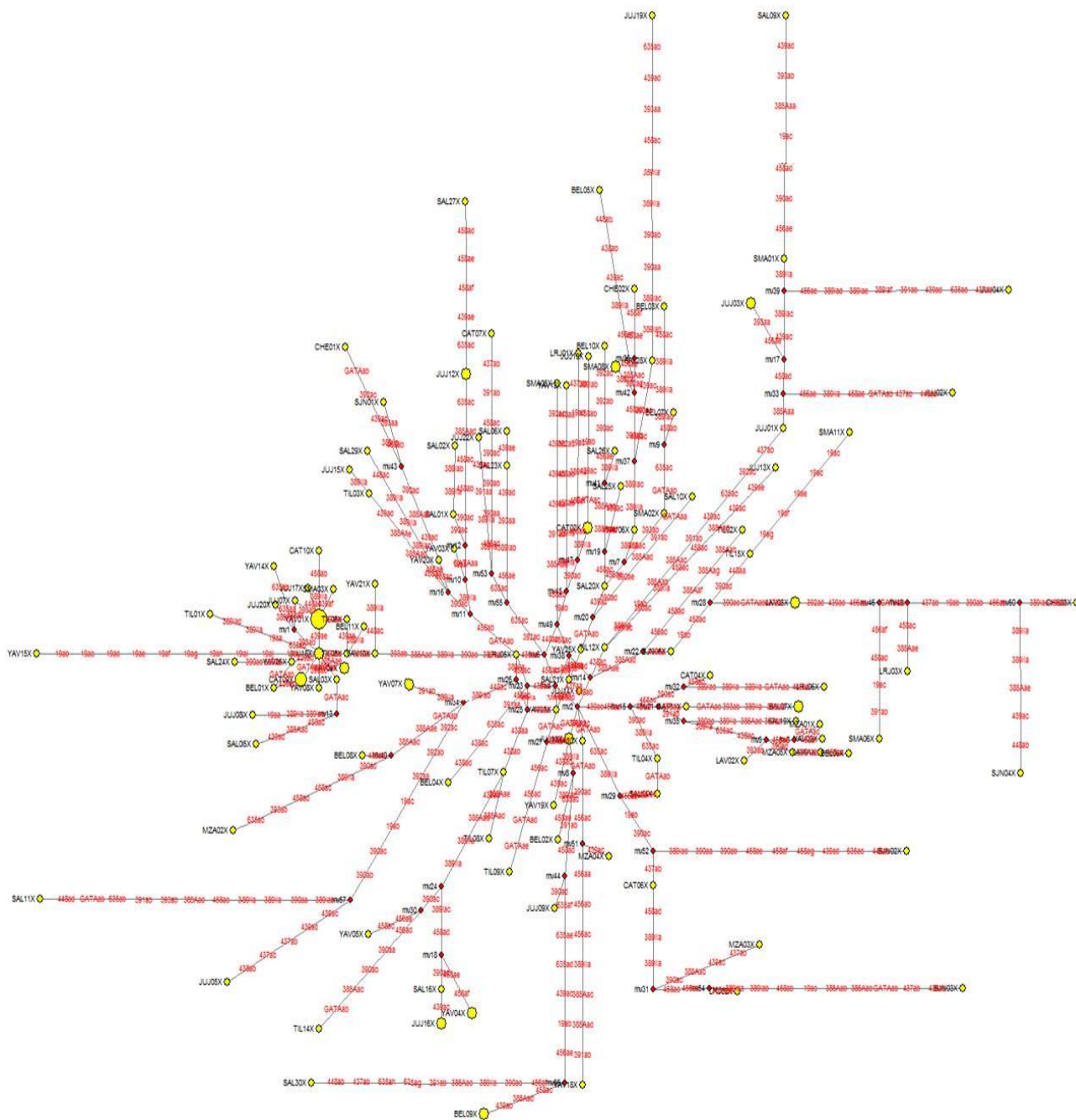


Figura 21. Red de haplotipos Q1a2a1a1, 155 individuos.

4. Discusión

Argentina comúnmente ha sido catalogada como “*la Europa de América*” este término expone explícitamente que estamos hablando de un país con una gran riqueza cultural, consecuencia de una historia de migraciones que no solo cambiaron la estructura social si no también la estructura genética poblaciones que ocupan el territorio. Cuando se trata de reconstruir la historia partiendo de los linajes paternos se puede tener una visión de los movimientos migratorios, dado que históricamente la dinámica laboral de trabajo a larga distancia emplea más hombres que mujeres. Estas condiciones laborales tienen como consecuencia, migraciones mayoritariamente masculinas, de tal manera los varones dispersan sus cromosomas Y, y los diferentes linajes paternos se distribuyen y se establecen, generando diversidad y cambiando la configuración genética de las poblaciones a donde llegan.

Los linajes paternos, definidos a partir de los haplogrupos, muestran una clara diferencia de frecuencias en cada población estudiada (Tabla 11). Todas las localidades presentan una alta diversidad, la mayoría tiene al menos un representante para cada haplogrupo analizado. Estos resultados se vincularían a las diferentes corrientes migratorias que recibió el país; inicialmente en la época de la colonización europea, durante los siglos XVI y XVIII y posteriormente las oleadas de inmigrantes que llegaron en búsqueda de trabajo y resguardo entre 1880-1950. Durante el último siglo las migraciones masivas ultramarinas disminuyeron considerablemente, caso contrario ocurrió con las migraciones desde países limítrofes las cuales han aumentado extensamente en las últimas décadas, generando así un crisol cultural y genético.

El sub-haplogrupo más frecuente fue R1 (40,5%) y dentro de este, el sub-haplogrupo R1b1b (31,9%) EL linaje R tienen una amplia distribución, se ha encontrado varias poblaciones de Asia y África (Hassan *et al.* 2008; Robino *et al.* 2008; Wood *et al.* 2005; Cruciani *et al.* 2002; Wells *et al.* 2001) Sin embargo es considerado como característico de Europa dado a su alta frecuencia (>50% de la población de varones europeos) (Underhill *et al.* 2010; Myres *et al.* 2011), los resultados obtenidos son concordantes con la historia del país como receptor de inmigrantes del Viejo Mundo. Los dos sub-haplogrupos del linaje R muestran una distintiva distribución geográfica: R1a es más frecuente en el este de Europa, de donde Argentina recibió migrantes pero en una menor

proporción comparado con las llegadas masivas desde Europa occidental (Italia, España, Francia, Inglaterra) (Devoto 2009), donde el sub-linaje R1b está representado en mayor número (Underhill *et al.* 2010; Myres *et al.* 2011; Zuccarelli *et al.* 2011). Este patrón diferencial en la frecuencia de estos dos sub-haplogrupos de R se ha encontrado también en poblaciones de las provincias de Misiones, Corrientes y Buenos Aires donde si bien se han encontrado cromosomas Y R1a, su frecuencia es baja en comparación con la que presenta R1b (Corach *et al.* 2010; Parolin *et al.* 2012). Adicionalmente el sub-haplogrupo R1a, en nuestras muestras lo encontramos localizado y restringido a algunas localidades (Figura 14); mientras que R1b presenta un degrade, la frecuencia del linaje R aumenta cuando nos desplazamos en sentido norte-sur a través del país, en nuestras poblaciones en particular encontramos los valores más altos en localidades que pertenecen a la región Cuyo (Figura 14). Resultados que coinciden con los datos del censo de 1914, registrando que Mendoza era la provincia andina con mayor afluencia de inmigrantes entre las aquí analizadas. La relevancia de esta localidad se debe en gran medida a la importante ruta comercial con Chile al igual que San Juan y al desarrollo de la industria del vino, generando así un foco de oferta laboral y estabilidad económica que la hace atractiva para los inmigrantes, este efecto también es notorio en estudios llevados a cabo en Buenos Aires, una zona de gran industrialización que la hace idónea para los inmigrantes, donde se encontró que más del 50% de los varones estudiados pertenecieron al haplogrupo R (Bobillo y Corach 2012)

Entre los linajes considerados extra continentales, el para-grupo F es el más frecuente (20,8%) después del R1 en las poblaciones de Argentina estudiadas hasta el momento en nuestro laboratorio. Las mayores frecuencias de los sub-haplogrupos de F (G, I, J) se han encontrado en poblaciones de Europa y Medio Oriente (Hammer *et al.* 2000; Underhill *et al.* 2000; Hammer *et al.* 2001; Jobling y Tyler-Smith 2003; Sengupta *et al.* 2006). Dentro de este linaje los sub haplogrupos hermanos J1 (M267) y J2 (M172), se distribuyen diferencialmente en el Cercano Oriente, Norte África y Europa; uno de los eventos más recientes que fueron causa de la dispersión de J2 fue la dispersión árabe sobre todo el continente europeo; mientras que la dispersión de J1 se explica por una migración desde Anatolia hasta el sureste de Europa (Cinnioğlu *et al.* 2004; Semino *et al.* 2004). Como consecuencia de la amplia dispersión, J2 en Argentina, se ha encontrado en aproximadamente el 10% de localidades de las provincias de Misiones, Corrientes, Formosa, Buenos Aires y Rio Negro (Corach *et al.* 2010), en nuestras muestras, el pico de

mayor frecuencia (25%) se encontró en Tucumán. En el último censo, esta localidad fue la que presentó mayor cantidad de habitantes, producto de ser la región más productiva del NOA. La alta frecuencia de cromosomas J2 en esta población, puede ser atribuida a la gran cantidad de migrantes de Medio Oriente, donde este linaje presenta altas frecuencias. Durante la primera década del siglo XX, cuando Argentina tuvo la mayor afluencia migratoria, los inmigrantes de Medio Oriente, llamados “turcos”, ocupaban el 3er. lugar en el volumen total de extranjeros a nivel nacional, después de españoles e italianos. Para el censo de 1914 en Tucumán, la proporción de inmigrantes provenientes del “Imperio Otomano” (o turcos dentro de los cuales los sirios y libaneses constituían la mayoría), sobre el total de inmigrantes era superior incluso que en capital (Devoto 2009). Las localidades después de Tucumán donde se encontró con alta frecuencia J2, fueron las pertenecientes a la región de Cuyo, donde históricamente ha existido un particular desarrollo económico y considerando la predilección de los “turcos” por las ocupaciones ligadas al comercio ambulante (Devoto 2009) son zonas de interés y predilección para la búsqueda laboral. Con respecto al haplogrupo J1 si bien se encontró en varias de las poblaciones estudiadas su frecuencia fue baja en comparación con su grupo hermano J2, considerando que la dispersión de J1 está asociada a una migración desde Medio Oriente hasta el Sureste de Europa y no sobre todo el continente (Semino *et al.* 2004) y que las oleadas de migrantes más grandes que recibió Argentina procedían de Europa Occidental es de esperarse que este sub haplogrupo esté representado en menor medida en las poblaciones actuales. Las frecuencias de J2 presentaron una distribución similar a las de R donde se puede observar un degrade que disminuye en sentido norte – sur, mientras que J1 si bien se vio representado en la mayoría de las poblaciones aquí analizadas tuvo picos puntuales en las localidades de Cuyo y en la localidad de Santa María, evidenciando así focos específicos de ubicación que no muestran una continuidad geográfica como lo hace J2 (Figura 12).

El sub haplogrupo I no se encontró en ninguno de los cromosomas analizados, este linaje se encuentra muy extendido en Europa, pero está prácticamente ausente en otros lugares del mundo, en Escandinavia por ejemplo se encontró con una frecuencia decreciente de tanto hacia la llanura europea oriental como hacia la franja atlántica (Cinnioğlu *et al.* 2004; Rootsi *et al.* 2004). Recientemente, se ha registrado en poblaciones argentinas con una frecuencias incluso similares a la de J2 (Corach *et al.* 2010; Bobillo y Corach 2012; Parolin *et al.* 2012;). La ausencia de estos cromosomas en nuestras muestras puede ser

atribuida al hecho que solo pudimos analizar el clado I1, probablemente dentro del grupo de muestras que no fueron asignadas a ningún sub-haplogrupo el multiplex 3 (Figura 4) se encuentren muestras que pertenezcan a I2.

En relación al sub haplogrupo G, se sabe que es en gran parte restringido a las poblaciones europeas, el Cercano / Medio Oriente y el sur de Europa, por un lado el sub haplogrupo G1 se ha encontrado en el Cercano / Medio Oriente incluyendo Anatolia, en la península árabe, Irán y el Golfo Pérsico estando prácticamente ausente en Europa (Cinnioğlu *et al.* 2004; Rootsi *et al.* 2012), esto explica el hecho de que ninguna de las muestras analizadas en el presente trabajo fue asignada a G1 ya que el mayor número de migrantes al país proviene de Europa. Por otro lado el sub haplogrupo G2 presenta una distribución similar a G1 pero además también se encuentra en Europa Occidental justamente la región europea de donde se registran las grandes oleadas de inmigrantes en el país (Cinnioğlu *et al.* 2004; Rootsi *et al.* 2012), En nuestras muestras presenta frecuencia es muy similar a la de J1 encontrada en el NOA y Cuyo, donde se pueden identificar focos específicos (Figura 12) estas frecuencias son comparables con estudios llevados a cabo en muestras provenientes de la población de Buenos Aires, zona que podría pensarse como una representación a pequeña escala de Argentina, debido a su alto flujo constante de migrantes de diferentes localidades del interior del país (Parolin *et al.* 2012).

El linaje E estuvo presente en el 80% de las localidades, con frecuencias entre el 5 y el 25%, este linaje tiene una particularidad dado que no ahondamos dentro de el, los cromosomas que fueron asignados como “E” pueden proceder tanto de Europa al igual que la gran mayoría de los linajes encontrados en Argentina, como de África, debido a la masiva entrada de esclavos africanos entre 1580 y 1810 (Underhill *et al.* 2000; Hammer *et al.* 2000; Semino *et al.* 2000; Hammer *et al.* 2001; Cruciani *et al.* 2002; Cruciani *et al.* 2004; Cinnioğlu *et al.* 2004). Es claro que todos los linajes que presentan una amplia distribución en el oeste europeo se ven representados en mayor o menor medida en la configuración genética de las poblaciones argentinas actuales. Para el haplogrupo E, el grafico de interpolación si bien nos muestra la típica clina norte – sur de los linajes extra continentales, presenta un notorio pico en Tucumán, que podría ser evidencia de una diferenciación extra continental dentro del mismo linaje (Figura 8).

El segundo linaje más frecuente Q-M242 lo analizamos al final para profundizar en su estudio por ser el ancestro del linaje autóctono Q-M3. Las mayores frecuencias se encontraron en la región del NOA en particular en las localidades de Maimará, La Quiaca y Jujuy. Al observar las frecuencias del linaje Q se encuentra una clara disminución de norte a sur (Bortolini *et al.* 2003; Seielstad *et al.* 2003). Dentro de Q-M242, con una frecuencia baja en poblaciones americanas (<6%) se ha reportado el paragrupo Q* que presenta el carácter derivado para M242 pero el estado ancestral para M3 (Bortolini *et al.* 2003; Bailliet *et al.* 2009). Dentro de este espectro encontramos en nuestras muestras cierta variabilidad (Figura 23).

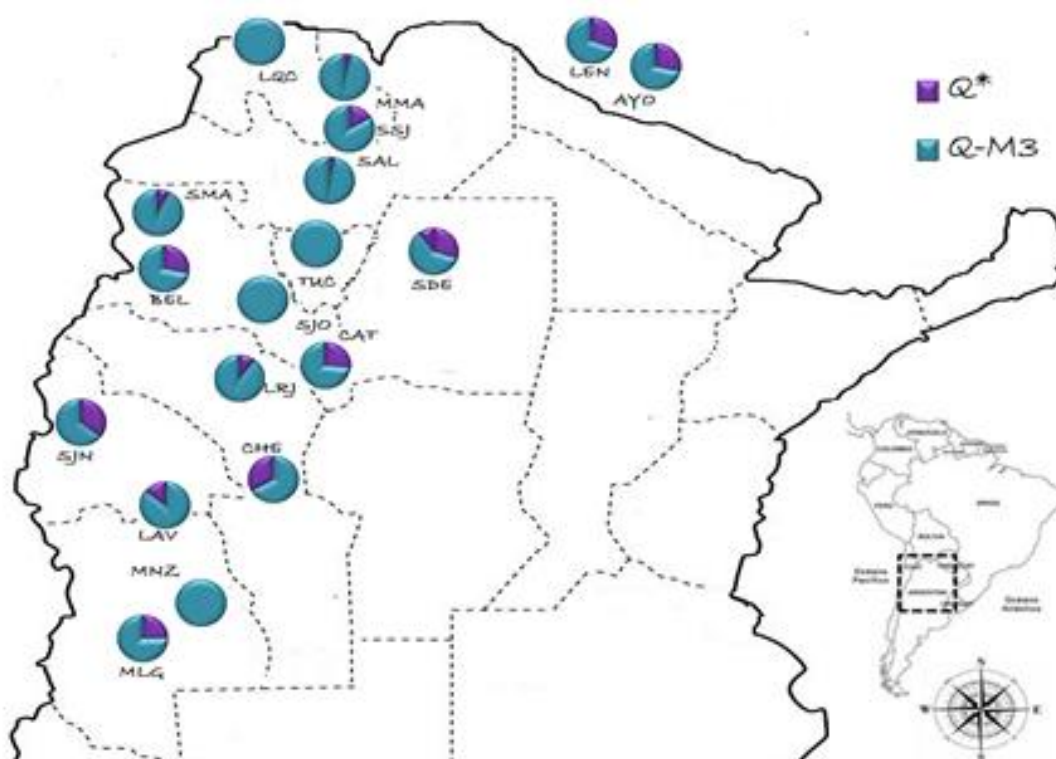


Figura 23. Distribución del haplogrupo Q en las poblaciones muestreadas

Dentro de Q-M242, el marcador P36, 2 que define el haplogrupo Q1, pudo identificarse en tres muestras de diferentes localidades. Q-P36.2, se ha encontrado hasta el momento en poblaciones de Pakistán, este de Siberia y Norteamérica (Karafet *et al.* 2002; YCC 2002; Grugni *et al.* 2012). Los individuos con el estado derivado para P36.2 pueden pertenecer al sub-haplogrupo definido por M378 se ha encontrado en poblaciones americanas (Battaglia *et al.* 2013). Considerando esta distribución, no podemos descartar

la posibilidad de que se trate de un sub-haplogrupo fundador de baja frecuencia que puede haberse ido perdiendo con el tiempo. A partir del gráfico de interpolación de frecuencias también puede observarse un patrón que presenta hechos aislados (Figura 16) y considerando que los participantes encuestados que pertenecieron a este linaje declararon que su abuelo por vía paterna provenía de la misma región donde fue llevado a cabo el muestreo, se respaldaría la hipótesis de que el linaje diagnosticado por P36.2 puede ser un linaje fundador.

El marcador M25 que define el haplogrupo Q1a1b se encontró en solo un individuo, considerando su baja frecuencia (Tabla 11) y su distribución específica en localidades de Irak, Irán, El Líbano, Asia central, norte de India, Pakistán y en algunas poblaciones de Mongolia (Underhill *et al.* 2001; Cinnioglu *et al.* 2004; Regueiro *et al.* 2006; Abu-Amero *et al.* 2009; Grugni *et al.* 2012; Dulik *et al.* 2012; Battaglia *et al.* 2013) no puede descartarse, que la presencia de este linaje en nuestras muestras sea evidencia de la contribución extra continental a los linajes paternos del país. Siguiendo con la filogenia (Figura 18) dentro del para-grupo Q1a2* definido por M346, encontramos dos individuos que no presentaron la transición para diagnóstica de L54, al igual que los del sub-haplogrupo Q1a1b (M25) es probable que tengan un origen alóctono debido a su baja frecuencia y a que han sido descritos únicamente en poblaciones de Arabia Saudita (Abu-Amero *et al.* 2009). Diferentes estudios en poblaciones del centro de Italia (Jenne) y Asia Menor (Anatolia) donde se han encontrado linajes QM242, proponen la hipótesis de un flujo de genes desde la región ubicada entre Europa del Este y Asia occidental, direccionada solamente hacia el continente asiático pero no hacia el resto del continente europeo (Herrera *et al.* 2012; Messina *et al.* 2015), los linaje Q que se han encontrado en Turquía (cerca del 2%) señalan un posible punto de partida desde el cercano oriente hasta el sur de Europa (Cinnioglu *et al.* 2004), estas propuestas, respaldan nuestra hipótesis de que los sub-haplogrupos QM25 y Q(XL54) encontrados en las muestras aquí analizadas son reflejo de la presencia de linajes extra continentales.

Dentro del sub-haplogrupo Q1a2a1 definido por L54, encontramos la mayoría de las muestras distribuidas en dos sub-haplogrupos Q1a2a1b (Q-CTS2730) y Q1a2a1a1 (M3) (Figura 18). El marcador CTS2730 sinónimo de Z780 descrito recientemente por el grupo de van Oven (2014). Lo encontramos en 21 individuos, la mayoría provienen de poblaciones del NOA y de las poblaciones aborígenes Lengua y Ayoreo. Teniendo en

cuenta que el NOA es la región donde se ha encontrado una mayor contribución autóctona tanto de linajes paternos como maternos, (Bailliet *et al.* 2005; Dipierri *et al.* 2005; Ramallo *et al.* 2005; Bailliet *et al.* 2009; Ramallo *et al.* 2009; Motti 2012), que los Lengua y ayoreos, además de ser poblaciones aborígenes se han caracterizado por ser poblaciones relativamente aisladas, con altas tasas de migración mayoritariamente dentro de la región (Demarchi *et al.* 2001; Cabana *et al.* 2006; Jurado-Medina *et al.* 2014), y que se ha encontrado hasta el momento en poblaciones mestizas de Ecuador y Nicaragua y en individuos de la etnia Quechua en el sur de Ecuador (Geppert *et al.* 2015), nuestros resultados apoyan la propuesta de que el sub-haplogrupo Q-CTS2730 (Q-Z780) es un linaje fundador de baja frecuencia en las poblaciones de nativos americanos.

Finalmente, el sub-haplogrupo Q1a2a1a1 (definido por la mutación M3) es el mayoritario y el más ampliamente distribuido por todo el continente americano (Underhill *et al.* 1996; Bianchi *et al.* 1998; Bortolini *et al.* 2003). Al contrario de lo que sucede con el haplogrupo R-M173, la frecuencia de Q-M3 en Argentina, disminuye en sentido norte-sur encontrándose en frecuencias relativamente bajas en poblaciones del centro y sur del país (García y Demarchi 2006; Corach *et al.* 2010; Bobillo y Corach 2012; Parolin *et al.* 2012). En nuestro estudio, las mayores frecuencias se encontraron en las localidades de la provincia de Jujuy, lo cual es concordante con investigaciones previas realizadas en la región (Altuna *et al.* 2009). La presencia de linajes típicamente americanos son más frecuentes en las localidades de altura que en los valles debido al relativo aislamiento geográfico que dificultó la entrada de colonizadores europeos a estas regiones (Dipierri *et al.* 1998). Además, el sub-haplogrupo Q1a2a1a1 se ha encontrado en altas frecuencias (entre 60 y 90%) en poblaciones aborígenes del NOA, en poblaciones aisladas del NOA (Bianchi *et al.* 1998; Dipierri *et al.* 1998; Bailliet *et al.* 2001; Ramallo *et al.* 2009) y en poblaciones urbanas de Salta y Jujuy en proporciones mayores al 50% (Bailliet *et al.* 2005).

A partir de las frecuencias de los diferentes haplogrupos se calculó la varianza, encontrando un bajo grado de diferenciación entre poblaciones ($F_{st}=0,06026$, $p=0,00$), es decir que, considerando la variabilidad de la población masculina, no se registra un patrón diferencial entre las localidades. En todas se encontró el linaje autóctono americano y los diferentes linajes extra-continetales identificados son resultado de los eventos

migratorios más importantes. Esta tendencia de uniformidad es producto del flujo génico, que pudo ocurrir con un patrón muy parecido en todas las poblaciones.

El mapa génico (Figura 19) construido mediante la técnica de componentes principales, muestra las afinidades genéticas entre las muestras. El primer componente que acumula el 70,4% de la variación y agrupa a todas las localidades de la provincia de Jujuy y Salta, donde se sabe que hay un mayor componente de linajes propios del continente y que por sus características históricas y geográficas no ha sufrido un intercambio genético tan fuerte en comparación con las demás regiones del país. El segundo componente acumula el 19,26% de la variabilidad separa solamente a Tucumán del resto de las localidades analizadas, probablemente se deba a su alto porcentaje de haplogrupo E y sub-haplogrupo J2. Las localidades no se separaron considerando las dos macro regiones analizadas en este trabajo (Cuyo y NOA), ya que esta fragmentación es arbitraria y no refleja la variabilidad genética actual (Ramallo *et al.* 2009). A partir de las frecuencias de los haplogrupos también analizamos MDS (Multi-Dimensional Scaling) otro método de ordenación en el cual encontramos un valor de Stress=0,08214, lo cual evidencia un buen ajuste (Kruskal 1964) de las afinidades genéticas entre muestras.

Finalmente los cálculos de varianza molecular a partir de STRs, en los individuos pertenecientes al linaje nativo americano mostraron que solamente el 1,6% del total de la variación en las frecuencias alélicas se da entre las poblaciones y el mayor porcentaje se encuentra dentro de las mismas 98,4% ($R_{st}=0,01613$). En la mayoría de los casos los haplotipos fueron únicos, de 155 individuos se obtuvieron 140 haplotipos diferentes, de los cuales sólo 9 fueron compartidos entre las poblaciones (Anexo 6). Los haplotipos compartidos se encontraron en poblaciones de la misma región, este hecho puede deberse a que, al ser zonas más cercanas han tenido facilidades migratorias generando así flujo genético. La localidad con mayor diversidad intra-poblacional fue Mendoza, mostrando que, incluso dentro de un mismo linaje, se puede apreciar variabilidad como consecuencia de ser un territorio que es centro económico y por ende atrae población de otras regiones (Paredes 2004).

Al comparar las distancias genéticas R_{st} con las distancias geográficas mediante el test de Mantel, no se encontró ninguna asociación significativa ($r=-0.21130$) lo que sugiere que la variación encontrada en las poblaciones no puede ser explicada por las distancias

geográficas que separan las localidades. A diferencia de lo que ocurre con las migraciones intercontinentales, las migraciones entre distintas regiones de América no son fácilmente identificables a nivel molecular. De tal manera la evaluación de las tendencias migratorias interregionales puede estudiarse mediante el análisis de barreras a partir de distancias genéticas, basadas en los Rst, y las coordenadas geográficas de todas las localidades muestreadas. Se calcularon tres barreras, la más fuerte separó a la localidad de Chepes, por ser la que presenta mayor diferenciación, con las demás poblaciones estudiadas (Anexo 7). Sin embargo esta separación posiblemente se deba al bajo número de muestras obtenidas definidas por Q-M3 y que fueron caracterizadas con STRs, por tal motivo se calcularon nuevamente las barreras genéticas sin considerar a Chepes.

El orden de prioridad de las barreras responde a las mayores distancias genéticas encontradas entre pares de localidades adyacentes (Figura 24) la presencia de estas barreras puede ser la evidencia de migraciones que ocurrieron en diferentes momentos de la historia, por un lado la llegada de los primeros pobladores al territorio argentino y su posterior establecimiento y diferenciación cultural y en una segunda instancia la migración diferencial post-colonial desde países limítrofes. La barrera “a”, separa a Jujuy con todas sus localidades, Salta y Santa María del resto de las poblaciones estudiadas, considerando el primer poblamiento del país y la conformación de las diferentes culturas, esta barrera coincide con la extensión de la cultura “Atacama” que se instaló en el extremo noroeste de Argentina, en lo que corresponde a las provincias de Jujuy, Salta y el extremo noroeste de Catamarca (Martínez Sarasola 1992), es probable que los linajes de esta cultura se estén viendo reflejados en la diferenciación de los linajes paternos actuales. También puede considerarse, que la barrera “a” siga un patrón de aislamiento más reciente influenciado por migraciones de países limítrofes como Chile, estos movimientos han sido de larga data, migraciones más recientes y una de las más numerosas fue desde el siglo XIX hasta la actualidad (Devoto 2009), su mayor localización se ha centrado en las provincias del sur, las provincias de la región cuyana y Buenos Aires (INDEC 2010). Dichas migraciones se han facilitado por la gran cantidad de pasos fronterizos de fácil acceso y la oferta de trabajo en agricultura (Devoto 2009). Por otro lado los datos referidos al lugar de nacimiento por vía paterna revelan en todas las localidades de la región de Cuyo un impacto de migración chilena, en Calingasta por ejemplo el 28% de los entrevistados que recordaba el origen de su abuelo paterno, afirmó

una procedencia chilena, en Lavalle y Malargüe fue más del 10% y en La Rioja a pesar de ser una localidad del NOA, cerca del 4%, una proporción incluso mayor que los que recordaban tener ascendencia española. Considerando la primera barrera encontrada podemos inferir entonces, es probable que los movimientos poblacionales desde Chile también están llegando a las localidades del sur de Catamarca y a La Rioja, de esta forma se evidencia un flujo de genes que homogeniza localidades de dos regiones geográficas CUYO y el sur del NOA.

La segunda barrera “b” separa a Maimará y La Quiaca del resto, la zona donde se ubican estas localidades fue habitada pre colonialmente por la cultura “*Omaguaca*”, la cual se caracterizó por un comercio continuo de coca con Bolivia, para los omaguaca, esta planta era muy importante en las celebraciones fúnebres (Martínez Sarasola 1992), hallazgos arqueológicos han demostrado desde los estilos cerámicos que estas localidades se han conservado independientes incluso en momentos de expansión (Mandrini, 2008) y su intercambio cultural y biológico se ha llevado mayormente con regiones limítrofes de Bolivia (Dipierri *et al.* 2005), esto se ve reflejado también en los resultados obtenidos a partir de la información genealógica donde: el 36.9% de los participantes en La Quiaca y 20.7% en Maimará que recordaban el lugar de nacimiento de su abuelo paterno afirmaron una procedencia boliviana. Esta barrera en particular concuerda con los resultados obtenidos a partir de secuencias de ADN mitocondrial en linajes maternos propios americanos provenientes de las mismas localidades (Motti 2012). Dichas barreras se calcularon teniendo en cuenta distancias genéticas de Nei. Es importante resaltar que aun partiendo de sistemas diferentes (ADN mitocondrial y STRS del cromosoma Y) y buscando barreras partiendo de diferentes distancias genéticas, se identificaron barreras muy parecidas dentro de los linajes americanos tanto paternos como maternos. En conclusión a partir de la barrera “b” que obtenemos dentro del linaje nativo americano sugiere una diferenciación de linajes americanos particularmente andinos.

La última barrera calculada “c”, separa a Santa María de las poblaciones del norte con la que se agrupó a partir de la barrera “a”, es probable que esta diferenciación este influenciada por una historia más antigua de estas regiones, en la mayor parte del territorio que hoy conforma la provincia de Catamarca y parte de La Rioja se asentó la cultura “*Diaguita*”, y en CUYO habitó la cultura “*Huarpe*”, podría pensarse que estas dos culturas estuvieron más relacionadas, sin embargo considerando que el cálculo de

barreras sigue un orden de importancia, esta fue la que mostro la menor diferenciación, es decir que si bien se generó una barrera que separa lo que anteriormente perteneció a las culturas Diaguita y Huarpe del resto, no es la que está indicando la diferenciación más importante dentro del linaje nativo americano.

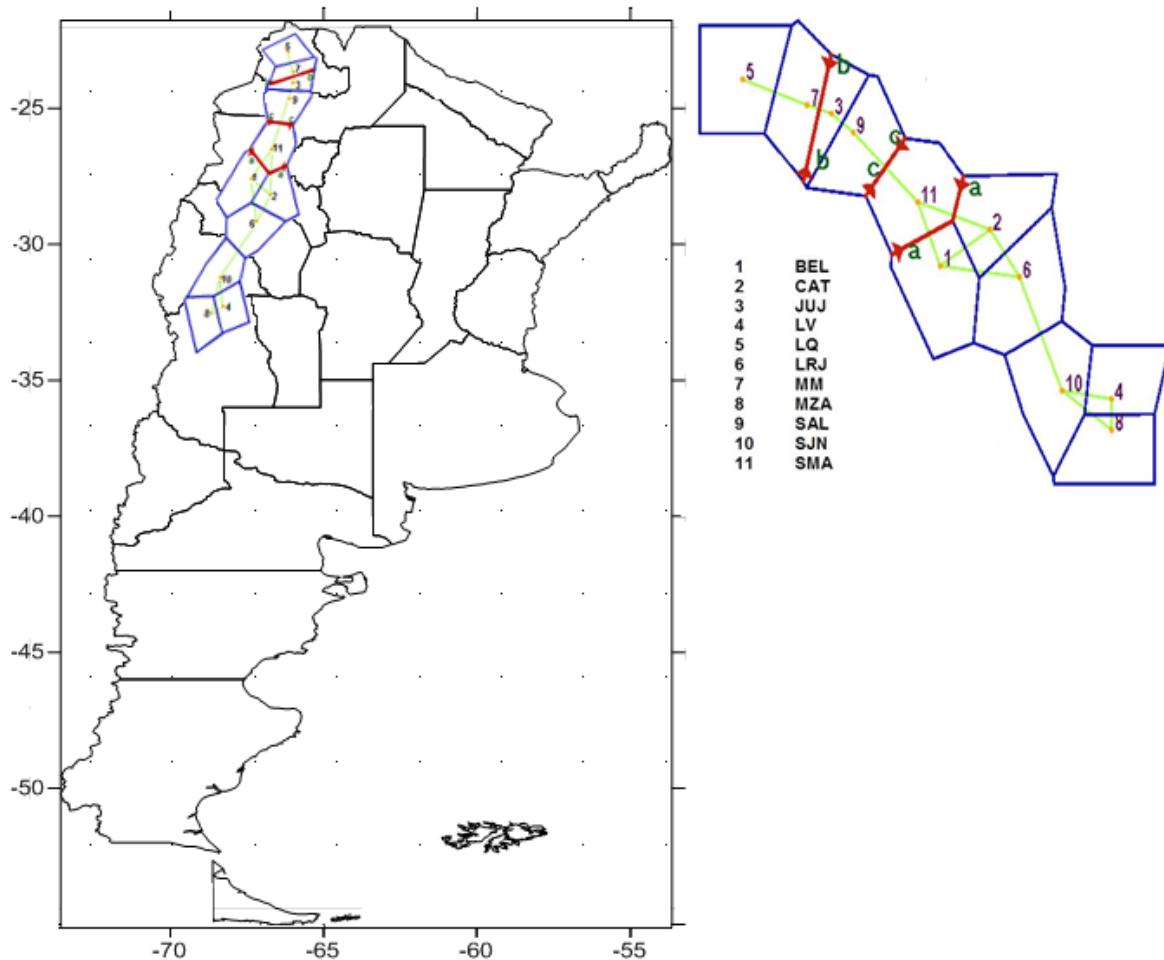


Figura 24. Los puntos amarillos corresponden a las poblaciones y las tres barreras calculadas (en rojo) se señalan con letras.

A partir de la regionalización encontrada con el cálculo de barreras, podemos ver el reflejo de una historia biológica en común. Si bien estas regiones no se han mantenido aisladas porque presentan linajes propios de otros lugares, la variación encontrada muestra una “coherencia” regional que puede ser el reflejo de una historia que tuvo desarrollos independientes en cada región.

A partir de las redes de Median- Joining calculadas para los individuos Q1a2a1a1, encontramos que el haplotipo “ancestral estimado” no estaba presente en nuestras muestras, sin embargo en el centro de la red donde se ubican los ancestros “calculados” por el programa, se encuentran haplotipos provenientes de La Quiaca, Salta y La Rioja, separados por no más de dos mutaciones, sugiriendo así que muy probablemente las muestras del NOA tienen el perfil ancestral para los demás haplotipos de la red. Aunque las muestras del NOA se encuentran distribuidas en toda la red, se puede observar algunos patrones de agrupación, el más evidente es el que parte de un individuo de La Rioja, y da lugar al grupo donde se encuentran la mayoría de los individuos de La Quiaca y Maimará agrupados con algunos otros de Jujuy y Salta (Figura 21). En conclusión el haplotipo ancestral calculado no está representado en ninguna de nuestras muestras, pero tres muestras del NOA (La Rioja, La Quiaca y Salta) están separadas del ancestro por no más de dos pasos mutacionales.

La frecuencia más alta se encontró a los 13 pasos mutacionales, la mayoría de los haplotipos se diferencian entre 8 y 17 pasos y se tuvo un registro de variación de cero hasta treinta y uno, si bien se encontraron variaciones a más 30 pasos mutacionales, la frecuencia de las mismas fue muy baja. La distribución “Mismatch” se obtuvo en forma de campana (Anexo 8), sugiriendo así que el linaje QM3 (Q1a21a1) tiene una alta heterogeneidad de haplotipos que evidencian un rápido crecimiento del linaje donde se pueden observar los perfiles más derivados.

De igual manera, calculamos redes de median-joining para el haplogrupo QCTS2730 (Q1a2a1b), dentro de este grupo tampoco se encontró el haplotipo ancestral dado que los linajes obtenidos en nuestras muestras son muy derivados incluso mucho más que los de Q1a2a1a1, en relación al ancestro “calculado”, en la figura 22 se grafican los haplotipos más ancestrales que pertenecen a individuos de Belén y Maimará, pero están a distancias de más de cinco pasos mutacionales. A diferencia de los linajes del haplogrupo QM3, se obtuvo una distribución “Mismatch” bimodal, la frecuencia más alta se encontró a los 7 pasos mutacionales y otro pico a los 14 pasos, no se detectaron haplotipos con diferencias entre 14 y 47 pasos mutacionales, revelando una pérdida de haplotipos intermedios, dado que el registro de variación obtenido fue de cero a sesenta y dos (el doble del encontrado en QM3) lo cual sugiere que probablemente este linaje es más ancestral y su distribución bimodal evidencia el efecto de la deriva, por pérdida de

haplotipos, ya sea de muestreo, debido a su baja frecuencia, o por cuellos de botella ocasionados por causas históricas que no han atravesado por un proceso de expansión y se han mantenido estable a lo largo del tiempo.

Conclusiones

- ❖ La caracterización genética de linajes paternos en las localidades muestreadas en el NOA y Cuyo, permite dilucidar una fuerte reducción de linajes nativos, esta disminución aumenta cuando nos desplazamos en sentido norte-sur a través del país.
- ❖ A partir de la estandarización de la técnica Múltiplex-APLP, se pudieron analizar nuevos SNPs diagnósticos de linajes extra continentales, encontrando una alta incidencia de los mismos en todas las localidades analizadas. Salvo en las provincias de Jujuy y Salta donde predominó el linaje paterno nativo americano, en las demás localidades los linajes alóctonos fueron más frecuentes.
- ❖ Si bien observamos diferentes frecuencias de los linajes en las localidades, no se encontró una estructuración de las mismas. Esto puede ser evidencia del impacto migratorio que ha tenido como consecuencia un constante flujo de genes que ha tendido a homogenizar la configuración genética de las poblaciones.
- ❖ Las migraciones extra continentales, apuntaron a prácticamente el 100% del país, sin embargo en las regiones de altura (La Puna) dado a sus condiciones geográficas las localidades se han mantenido relativamente aisladas, haciendo que se preserven los linajes nativos sobre los alóctonos (como fue el caso de Maimara y La Quiaca). El flujo génico en estas poblaciones, ha tenido lugar principalmente con regiones limítrofes de Bolivia y la región Chaqueña que a su vez ha mantenido relación con poblaciones aborígenes de Paraguay.
- ❖ A partir del estudio profundo dentro del linaje nativo americano, encontramos evidencias de contacto diferencial intra continental en las diferentes regiones, estudiadas. La región cuyana y las provincias del NOA lindantes al Cuyo (La Rioja y Catamarca) reciben migrantes con linajes paternos nativos principalmente de la de Chile y probablemente conserven antiguos linajes paternos de la cultura Atacama que habitó en épocas precolombinas en estas zonas, por otro lado en el actual territorio de La Quiaca y Maimará habitó una cultura diferente, la

Omaguaca y estas localidades históricamente han mantenido contacto e intercambio con las regiones limítrofes de Bolivia.

- ❖ Al comparar nuestros datos con los obtenidos, a partir de ADN mitocondrial en las mismas poblaciones, confirmamos una vez más la contribución sexo asimétrica encontrando poblaciones compuestas en su mayoría por linajes paternos mayoritariamente extra continentales y linajes maternos predominantemente americanos. Este mismo patrón puede observarse también en varios países del continente.

REFERENCIAS

- Abu-Amero KK, Hellani A, Gonzalez AM, Larruga JM, Cabrera VM, and Underhill PA. 2009. Saudi Arabian Y-Chromosome diversity and its relationship with nearby regions. *BMC Genet* 10:59.
- Altuna ME; García A; Ramallo V; Bailliet G; Modesti NM; Demarchi DA. 2009. Origin of paternal lineages in an admixed population of Northern Argentina (La Esperanza, Jujuy) *Forensic Science International: Genetics Supplement Series.*; Lugar: Amsterdam; vol. 2 p. 451 – 452.
- Altuna ME, Modesti NM, Demarchi DA. 2006. Y-chromosomal evidence for a founder effect in Mbyá-guaraní Amerindians from northeast Argentina. *Hum Biol.*78(5):635-9.
- Amaral, S. 1993. Del mercantilismo a la libertad: las consecuencias de la independencia argentina. In *La independencia americana: consecuencias económicas* (pp. 201-218). Alianza Editorial.
- Avena SA, Parolin ML, Boquet M, Dejean CB, Postillone MB, Alvarez Trentini Y, Di Fabio Rocca F, Mansilla F, Jones L, Dugoujon JM; Carnese FR. 2010. Mezcla génica y linajes uniparentales en Esquel (Pcia. de Chubut): Su comparación con otras muestras poblacionales argentinas. *BAG Journal of basic and applied genetics* 21:01-14.
- Bailliet G, Castilla EE, Adams JP, Orioli IM, Martinez-Marignac VL, Richard SM, and Bianchi NO. 2001. Correlation between molecular and conventional genealogies in Aicuna: a rural population from Northwestern Argentina. *Hum Hered* 51(3):150-159.
- Bailliet G, Ramallo V, Alfaro EL, Dipierri JE, Bianchi NO. Linajes holándricos en tres poblaciones del NO Argentino. *Simpósio Antropología Biológica e Identidad. Séptimas Jornadas Nacionales de Antropología Biológica.* Córdoba , 26 al 30 de septiembre de 2005.
- Bailliet G, Ramallo V, Muzzio M, Garcia A, Santos MR, Alfaro EL, Dipierri JE, Salceda S, Carnese FR, Bravi CM, Bianchi N. O., Demarchi D. 2009. Brief communication: Restricted geographic distribution for Y-Q* paragroup in South America. *Am J Phys Anthropol* 140(3):578-582.
- Bailliet, G., Ramallo, V., Muzzio, M., Santos, M., Motti, J., Bianchi, N., Bravi, C.. Antecedentes y nuevos aportes en el estudio del Cromosoma Y en poblaciones humanas Sudamericanas.. *BAG. Journal of basic and applied genetics, North America*, 22, nov. 2011.
- Bandelt HJ, Forster P, and Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol Biol Evol* 16(1):37-48.
- Ballantyne, K. N., Ralf, A., Aboukhalid, R., Achakzai, N. M., Anjos, M. J., Ayub, Q., Balažic, J., Ballantyne, J., Ballard, D. J., Berger, B., Bobillo, C., Bouabdellah, M., Burri, H., Capal, T., Caratti, S., Cárdenas, J., Cartault, F., Carvalho, E. F., Carvalho, M., Cheng, B., Coble, M. D., Comas, D., Corach, D., D'Amato, M. E., Davison, S., de Knijff, P., De Ungria, M. C. A., Decorte, R., Dobosz, T., Dupuy, B. M., Elmrgbni, S., Gliwiński, M., Gomes, S. C., Grol, L., Haas, C., Hanson, E., Henke, J., Henke, L., Herrera-Rodríguez, F., Hill, C. R., Holmlund, G., Honda, K., Immel, U.-D., Inokuchi, S., Jobling, M. A., Kaddura, M., Kim, J. S., Kim, S. H., Kim, W., King, T. E., Klausriegler, E., Kling, D., Kovačević, L., Kovatsi, L., Krajewski, P., Kravchenko, S., Larmuseau, M. H. D., Lee, E. Y., Lessig, R., Livshits, L. A., Marjanović, D., Minarik, M., Mizuno, N., Moreira, H., Morling, N., Mukherjee, M., Munier, P., Nagaraju, J., Neuhuber, F., Nie, S., Nilasitsatoporn, P., Nishi, T., Oh, H. H., Olofsson, J., Onofri, V., Palo,

- J. U., Pamjav, H., Parson, W., Petlach, M., Phillips, C., Ploski, R., Prasad, S. P. R., Primorac, D., Purnomo, G. A., Purps, J., Rangel-Villalobos, H., Rębała, K., Rerkamnuaychoke, B., Gonzalez, D. R., Robino, C., Roewer, L., Rosa, A., Sajantila, A., Sala, A., Salvador, J. M., Sanz, P., Schmitt, C., Sharma, A. K., Silva, D. A., Shin, K.-J., Sijen, T., Sirker, M., Siváková, D., Škaro, V., Solano-Matamoros, C., Souto, L., Stenzl, V., Sudoyo, H., Syndercombe-Court, D., Tagliabracci, A., Taylor, D., Tillmar, A., Tsybovsky, I. S., Tyler-Smith, C., van der Gaag, K. J., Vanek, D., Völgyi, A., Ward, D., Willemse, P., Yap, E. P.H., Yong, R. Y.Y., Pajnič, I. Z. and Kayser, M. 2014. Toward Male Individualization with Rapidly Mutating Y-Chromosomal Short Tandem Repeats. *Human Mutation* 35(8):1021-1032.
- Battaglia V, Grugni V, Perego UA, Angerhofer N, Gomez-Palmieri JE, Woodward SR, Achilli A, Myres N, Torroni A, and Semino O. 2013. The first peopling of South America: new evidence from Y-chromosome haplogroup Q. *PLoS One* 8(8):e71390.
- Behar, D.M., Garrigan, D., Kaplan, M.E., Mobasher, Z., Rosengarten, D., Karafet, T.M., Quintana-Murci, L., Ostrer, H., Skorecki, K., and Hammer, M.F. 2004. Contrasting patterns of Y chromosome variation in Ashkenazi Jewish and host non-Jewish European populations. *Hum. Genet.* 114: 354–365.
- Bellott DW, Hughes JF, Skaletsky H, Brown LG, Pyntikova T, Cho TJ, Koutseva N, Zaghlul S, Graves T, Rock S, Kremitzki C., Fulton R. S., Dugan S., Ding Y., Morton D., Khan Z., Lewis L., Buhay C., Wang Q., Watt J., Holder M., Lee S., Nazareth L., Rozen S., Muzny D. M., Warren W. C., Gibbs R. A., Wilson R. K. & Page D. C. 2014. Mammalian Y chromosomes retain widely expressed dosage-sensitive regulators. *Nature* 508(7497):494-499.
- Bellott DW, Skaletsky H, Pyntikova T, Mardis ER, Graves T, Kremitzki C, Brown LG, Rozen S, Warren WC, Wilson R. K., Page D. C. 2010. Convergent evolution of chicken Z and human X chromosomes by expansion and gene acquisition. *Nature* 466(7306):612-616.
- Bergen AW, Wang CY, Tsai J, Jefferson K, Dey C, Smith KD, Park SC, Tsai SJ, and Goldman D. 1999. An Asian-Native American paternal lineage identified by RPS4Y resequencing and by microsatellite haplotyping. *Ann Hum Genet* 63(Pt 1):63-80.
- Bianchi NO, Catanesi CI, Bailliet G, Martinez-Marignac VL, Bravi CM, Vidal-Rioja LB, Herrera RJ, and Lopez-Camelo JS. 1998. Characterization of ancestral and derived Y-chromosome haplotypes of New World native populations. *Am J Hum Genet* 63(6):1862-1871.
- Bisso-Machado, R., Bortolini, M. C., y Salzano, F. M. 2012. Uniparental genetic markers in South Amerindians. *Genetics and Molecular Biology*, 35(2), 365–387.
- Blanco-Verea A, Jaime JC, Brión M, Carracedo A. 2010. Y-chromosome lineages in native South American population. *Forensic Sci Int Genet*; 4(3):187-93.
- Bobillo C.; Corach D. 2012. Desplazamiento étnico en la Región Bonaerense. Empleo de marcadores genéticos en la detección del nivel de heterogeneidad genética en la población actual. *Revista del Museo de Antropología*; Vol. 5 p. 45 – 52.
- Bolnick DA, Bolnick DI, and Smith DG. 2006. Asymmetric male and female genetic histories among Native Americans from Eastern North America. *Mol Biol Evol* 23(11):2161-2174.
- Bortolini MC, Salzano FM, Thomas MG, Stuart S, Nasanen SP, Bau CH, Hutz MH, Layrisse Z, Petzl-Erler ML, Tsuneto LT, Hill K, Hurtado AM, Castro-de-Guerra D, Torres MM, Groot H, Michalski R, Nymadawa P, Bedoya G, Bradman N, Labuda D, Ruiz-Linares A. 2003. Y-chromosome evidence for differing ancient demographic histories in the Americas. *Am J Hum Genet* 73(3):524-539.

- Cabana G, Merriwether AD, Hunley KL, Demarchi DA. 2006. Is the genetic structure of Gran Chaco populations unique? Interregional perspectives on Native South American mitochondrial DNA variation. *Am J Phys Anthropol* 131:108-119.
- Capelli, C., Wilson, J.F., Richards, M., Stumpf, M.P., Gratrix, F., Oppenheimer, S., Underhill, P., Pascali, V.L., Ko, T.M., and Goldstein, D.B. 2001. A predominantly indigenous paternal heritage for the Austronesian-speaking peoples of insular Southeast Asia and Oceania. *Am. J. Hum. Genet.* 68: 432–443.
- Cinnioğlu C, King R, Kivisild T, Kalfoglu E, Atasoy S, Cavalleri G, Lillie A, Roseman C, Lin A, Prince K Oefner PJ, Shen P, Semino O, Cavalli-Sforza LL, Underhill PA. 2004. Excavating Y-chromosome haplotype strata in Anatolia. *Human Genetics* 114(2):127-148
- Cliff AD, Ord JK. 1973. *Spatial Autocorrelation*. Pion Ltd, London.
- Corach D, Lao O, Bobillo C, van Der Gaag K, Zuniga S, Vermeulen M, van Duijn K, Goedbloed M, Vallone PM, Parson W, de Knijff P, Kayser M. 2010. Inferring Continental Ancestry of Argentineans from Autosomal, Y-Chromosomal and Mitochondrial DNA. *Ann Hum Genet.* Jan;74(1):65-76
- Cortellini V, Verzeletti A, Cerri N, Marino A, and De Ferrari F. 2013. Y-chromosome polymorphisms and ethnic group - a combined STR and SNP approach in a population sample from northern Italy. *Croat Med J* 54(3):279-285.
- Cortez D, Marin R, Toledo-Flores D, Froidevaux L, Liechti A, Waters PD, Grutzner F, and Kaessmann H. 2014. Origins and functional evolution of Y chromosomes across mammals. *Nature* 508(7497):488-493.
- Cruciani F, La Fratta R, Santolamazza P, Sellitto D, Pascone R, Moral P, Watson E, Guida V, Colomb EB, Zaharova B., Lavinha J, Vona G, Aman R, Cali F, Akar N, Richards M, Torroni A, Novelletto A, Scozzari R. 2004. Phylogeographic analysis of haplogroup E3b (E-M215) y chromosomes reveals multiple migratory events within and out of Africa. *Am J Hum Genet* 74(5):1014-1022.
- Cruciani, F., Santolamazza, P., Shen, P., Macaulay, V., Moral, P., Olckers, A., Modiano, D., Holmes, S., Destro-Bisol, G., Coia, V., Wallace DC, Oefner PJ, Torroni A, Cavalli-Sforza LL, Scozzari R, Underhill PA. 2002. A back migration from Asia to sub-Saharan Africa is supported by high-resolution analysis of human Y-chromosome haplotypes. *Am. J. Hum. Genet.* 70: 1197–1214.
- Demarchi, D. 2009. Microsatelites, distancias genéticas y estructura de poblaciones nativas sudamericanas. *Revista Argentina De Antropología Biológica* 11(1):73-88.
- Devoto, F. 2009. *Historia de la Inmigración en Argentina*. Apendice. Tercera Edición. Editorial Sudamerica SA. Humberto 1531, Buenos Aires. ISBN 978-950-07-3039-6.
- Dipierri, J.E.; Alfaro, E.L.; Bailliet, G.; Bravi, C.M., Albeck, M.E.; Muzzio, M.; Ramallo, V.; Motti, J.M.B. 2011. Estructura genético-isonímica del noroeste Argentino. *BAG, J. basic appl. genet.* vol.22 no.2 Ciudad Autónoma de Buenos Aires.
- Dipierri, J.E., Alfaro, E., Bejarano, I., 1999. Surnames, ABO system and miscegenation in highlands population of province of Jujuy (Northwest Argentina). *HOMO* 50, 14–20.

- Dipierri JE, Alfaro E, Bejarano IF, and Etchart AA. 1998a. Acetylator phenotypes: allele frequency in northwestern Argentina and review of acetylator distribution in the Americas. *Hum Biol* 70(5):959-964.
- Dipierri, JE., Alfaro, E., Dugoujon, JM., Constans, J., 2000. GM and KM immunoglobulin allotypes and other serum genetic markers(Hp, Gc, Pi and Tf) among South American living at different altitudes (Jujuy Province, Argentina): admixtures estimates.*Hum. Biol.* 72, 305–319.
- Dipierri, JE.,Gutiérrez-Redomero E., Alonso-Rodríguez C., Alfaro EL., Demarchi D., Rivaldería N. 2014. Surnames, geographic altitude, and digitaldermatoglyphics in a male population from the province of Jujuy (Argentina). *Journal of Comparative Human Biology* 65 256–266
- Dipierri JE, Alfaro E, Martinez-Marignac VL, Bailliet G, Bravi CM, Cejas S, and Bianchi NO. 1998b. Paternal directional mating in two Amerindian subpopulations located at different altitudes in northwestern Argentina. *Hum Biol* 70(6):1001-1010.
- Dipierri, JE., Rodríguez Larralde, A., Alfaro, EL., Andrade, A, Cháves E, Barrai, I., 2005, Surname distribution and migration in the Argentina northwest, 10, 35-50. www.didac.ehu.es/antropo.
- Demarchi, D., Clariá, D.M., Dipierri, J.E., Gardenal, C.N., 2000. Genetic structure of native populations from Argentina inhabiting at different altitudes. *Hum. Biol.* 72, 519–525.
- Demarchi DA, Panzetta-Dutari GM, Motran CC, Basualdo MA, Marcellino AJ. 2001. Mitochondrial DNA haplogroups in Amerindian populations from the Gran Chaco. *Am J Phys Anthropol* 115:199-3.
- Dulik MC, Owings AC, Gaieski JB, Vilar MG, Andre A, Lennie C, Mackenzie MA, Kritsch I, Snowshoe S, Wright R, Martin J, Gibson N, Andrews TD, Schurr TG; Genographic Consortium. 2012a. Y-chromosome analysis reveals genetic divergence and new founding native lineages in Athapaskan- and Eskimoan-speaking populations. *Proc Natl Acad Sci U S A*. May 29;109(22):8471-6.
- Dulik MC, Zhadanov SI, Osipova LP, Askapuli A, Gau L, Gokcumen O, Rubinstein S, Schurr TG. 2012b. Mitochondrial DNA and Y chromosome variation provides evidence for a recent common ancestry between Native Americans and Indigenous Altaians. *Am J Hum Genet*. Feb 10;90(2):229-46.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47- 50.
- Excoffier L, Smouse PE, and Quattro JM. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* 131(2):479-491.
- Forster P, Torroni A, Renfrew C, Röhl A. 2001. Phylogenetic star contraction applied to Asian and Papuan mtDNA evolution. *Mol Biol Evol* 18:1864-1881.
- García A, Ramallo V, Bailliet G y Demarchi DA. Análisis de linajes paternos en poblaciones rurales de I Centro de Argentina. XXXVII Congreso Argentino de Genética. Tandil, Argentina. 2008.
- Garcia A. y Demarchi D. 2006. Linajes parentales amerindios en poblaciones del norte de Cordoba. *Revista Argentina de Antropología Biológica* .8 (1): 57-71.

- Geppert M, Ayub Q, Xue Y, Santos S, Ribeiro-dos-Santos Â, Baeta M, Núñez C, Martínez-Jarreta B, Tyler-Smith C, Roewer L. 2015. Identification of new SNPs in native South American populations by resequencing the Y chromosome. *Forensic Sci Int Genet.* Mar;15:111-4.
- Geppert M., Baeta M., Nuñez C., Martinez-Jarreta B., Zweynert S. Vacas Cruz OW., Gonzalez-Andrade F., Gonzalez-Solorzano J., Nagy M., Roewer L. 2011. Hierarchical Y-SNP assay to study the hidden diversity and phylogenetic relationship of native populations in South America. *Forensic Science International: Genetics* 5 , 100–104
- Golden Software, Inc. 2002. Surface Mapping System. Surfer v. 12.0. Golden, Colorado.
- Greenberg JH .1987. Language in the Americas. Stanford: Stanford University Press, Stanford.
- Greenberg JH, Turner CG, Zegura SL 1986. The settlement of the Americas: a comparison of linguistic, dental, and genetic evidence. *Current Anthropology* 4:477-497.
- Grugni V, Battaglia V, Hooshiar Kashani B, Parolo S, Al-Zahery N, Achilli A, Olivieri A, Gandini F, Houshmand M, Sanati MH, Torroni A, Semino O. 2012. Ancient migratory events in the Middle East: new clues from the Y-chromosome variation of modern Iranians. *PLoS One.* 2012;7(7):e41252.
- Griffith DA. 1987. Spatial autocorrelation: a primer. Association of. American. Geographers. Washington.
- Gusmao L, Sánchez-Diz P, Calafell F, Martín P, Alonso CA, Álvarez-Fernández F, Alves C, Borjas-Fajardo L, Bozzo WR, Bravo ML, Builes JJ, Capilla J, Carvalho M, Castillo C, Catanesi CI, Corach D, Di Lonardo AM, Espinheira R, Fagundes de Carvalho E, Farfán MJ, Figueiredo HP, Gomes I, Lojo MM, Marino M, Pinheiro MF, Pontes ML, Prieto V, Ramos-Luis E, Riancho JA, Souza Góes AC, Santapa OA, Sumita DR, Vallejo G, Vidal Rioja L, Vide MC, Vieira da Silva CI, Whittle MR, Zabala W, Zarrabeitia MT, Alonso A, Carracedo A, Amorim A. 2005. Mutation Rates at Y Chromosome Specific Microsatellites HUMAN MUTATION 26(6): 520-528.
- Hallast P, Batini C, Zadik D, Maisano Delser P, Wetton JH, Arroyo-Pardo E, Cavalleri GL, de Knijff P, Destro Bisol G, Dupuy BM, Eriksen HA, Jorde LB, King TE, Larmuseau MH, López de Munain A, López-Parra AM, Loutradis A, Milasin J, Novelletto A, Pamjav H, Sajantila A, Schempp W, Sears M, Tolun A, Tyler-Smith C, Van Geystelen A, Watkins S, Winney B, Jobling MA. 2015. The Y-Chromosome Tree Bursts into Leaf: 13,000 High-Confidence SNPs Covering the Majority of Known Clades. *Mol Biol Evol.* Mar;32(3):661-73.
- Hancock J. 1999. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. Págs 1-9 en: Goldstein DB y Schlötterer C. (Eds). *Microsatellites: Evolution and Applications.* Oxford University Press. Oxford.
- Hammer, M.F., Karafet, T.M., Park, H., Omoto, K., Harihara, S., Stoneking, M., and Horai, S. 2006. Dual origins of the Japanese: Common ground for hunter-gatherer and farmer Y chromosomes. *J.Hum. Genet.* 51: 47–58.
- Hammer, M.F., Karafet, T.M., Redd, A.J., Jarjanazi, H., Santachiara-Benerecetti, S., Soodyall, H., and Zegura, S.L. 2001. Hierarchical patterns of global human Y-chromosome diversity. *Mol. Biol. Evol.* 18: 1189–1203.
- Hammer, M. F. y Zegura, S. L. 1996, The role of the Y chromosome in human evolutionary studies. *Evol. Anthropol.*, 5: 116–134. doi: 10.1002/(SICI)1520-6505

- Hammer MF, Redd AJ, Wood ET, Bonner MR, Jarjanazi H, Karafet T, Santachiara-Benerecetti S, Oppenheim A, Jobling MA, Jenkins T, Ostrer H, Bonne-Tamir B. 2000. Jewish and Middle Eastern non-Jewish populations share a common pool of Y-chromosome biallelic haplotypes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97(12):6769-6774.
- Hassan HY, Underhill PA, Cavalli-Sforza LL, Ibrahim ME. 2008. Y-chromosome variation among Sudanese: restricted gene flow, concordance with language, geography, and history. *Am J Phys Anthropol.* Nov;137(3):316-23.
- Herrera KJ, Lowery RK, Hadden L, Calderon S, Chiou C, Yepiskoposyan L, Regueiro M, Underhill PA, y Herrera RJ. 2012. Neolithic patrilineal signals indicate that the Armenian plateau was repopulated by agriculturalists. *Eur J Hum Genet* 20(3):313-320.
- Hey, J. 2005. On the Number of New World Founders: A Population Genetic Portrait of the Peopling of the Americas. *PLoS Biology*, 3(6), e193. doi:10.1371/journal.pbio.0030193.
- Hughes JF, Skaletsky H, Brown LG, Pyntikova T, Graves T, Fulton RS, Dugan S, Ding Y, Buhay CJ, Kremitzki C, Wang Q, Shen H, Holder M, Villasana D, Nazareth LV, Cree A, Courtney L, Veizer J, Kotkiewicz H, Cho TJ, Koutseva N, Rozen S, Muzny DM, Warren WC, Gibbs RA, Wilson RK, Page DC. 2012. Strict evolutionary conservation followed rapid gene loss on human and rhesus Y chromosomes. *Nature* 483(7387):82-86.
- Hughes JF, Skaletsky H, Pyntikova T, Graves TA, van Daalen SKM, Minx PJ, Fulton RS, McGrath SD, Locke DP, Friedman C, Trask BJ, Mardis ER, Warren WC, Repping S, Rozen S, Wilson RK, Page DC. 2010. Chimpanzee and human Y chromosomes are remarkably divergent in structure and gene content. *Nature* 463(7280):536-539.
- Hughes JF, Skaletsky H, Pyntikova T, Minx PJ, Graves T, Rozen S, Wilson RK, and Page DC. 2005. Conservation of Y-linked genes during human evolution revealed by comparative sequencing in chimpanzee. *Nature* 437(7055):100-103.
- Hurles, M.E., Nicholson, J., Bosch, E., Renfrew, C., Sykes, B.C., and Jobling, M.A. 2002. Y chromosomal evidence for the origins of Oceanic-speaking peoples. *Genetics* 160: 289–303.
- Jobling, M.A. and Tyler-Smith-Smith, C. 2003. The human Y chromosome: An evolutionary marker comes of age. *Nat. Rev. Genet.* 4: 598–612.
- Jota, MS; Lacerda DR; Sandoval JR; Viera PP; Santos-Lopes S; Bisso-Machado R, Paixa VR; Revollo S; Paz-Y-Min C; Fujita R; Salzano FM; Bonatto SL; Bortolini MC; Santos F; Genographic Consortium. 2011. A New Subhaplogroup of Native American Y-Chromosomes From the Andes. *American Journal Of Physical Anthropology* 000:000–000. DOI 10.1002/ajpa.21519
- Jurado Medina LS; Ramallo V.; Calandra H.; Lamenza G.; Braunstein J.; Salceda S.; Baillet G. 2014. Linajes Paternos Del Gran Chaco, Un Abordaje Desde El Adn. *FOLIA Histórica del Nordeste*; vol. 22 p. 187 – 202.
- Karachanak S, Grugni V, Fornarino S, Nesheva D, Al-Zahery N, Battaglia V, Carossa V, Yordanov Y, Torroni A, Galabov AS, Toncheva D, Semino O. 2013. Y-chromosome diversity in modern Bulgarians: new clues about their ancestry. *PLoS One.* 8(3):e56779
- Karafet, T.M., Lansing, J.S., Redd, A.J., Reznikova, S., Watkins, J.C., Surata, S.P., Arthawiguna, W.A., Mayer, L., Bamshad, M., Jorde, L.B., Hammer M. F. 2005. Balinese Y-chromosome perspective on the peopling of Indonesia: Genetic contributions from pre-Neolithic hunter-gatherers, Austronesian farmers, and Indian traders. *Hum.Biol.* 77: 93–114

- Karafet TM, Mendez FL, Meilerman MB, Underhill PA, Zegura SL, and Hammer MF. 2008. New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. *Genome Res* 18(5):830-838.
- Karafet, T.M., Osipova, L.P., Gubina, M.A., Posukh, O.L., Zegura, S.L., and Hammer, M.F. 2002. High levels of Y-chromosome differentiation among native Siberian populations and the genetic signature of a boreal hunter-gatherer way of life. *Hum. Biol.* 74: 761–789.
- Karafet, T., Xu, L., Du, R., Wang, W., Feng, S., Wells, R.S., Redd, A.J., Zegura, S.L., and Hammer, M.F. 2001. Paternal population history of East Asia: Sources, patterns, and microevolutionary processes. *Am. J. Hum. Genet.* 69: 615–628.
- Kayser, M., Brauer, S., Cordaux, R., Casto, A., Lao, O., Zhivotovsky, L.A., Moysé-Faurie, C., Rutledge, R.B., Schiefenhoefel, W., Gil, D., Lin AA, Underhill PA, Oefner PJ, Trent RJ, Stoneking M. 2006. Melanesian and Asian origins of Polynesians: mtDNA and Y chromosome gradients across the Pacific. *Mol. Biol. Evol.* 23: 2234–2244.
- Kent WJ. 2002. BLAT--the BLAST-like alignment tool. *Genome Res* 12(4):656-664.
- Kibbe WA. 2007. OligoCalc: an online oligonucleotide properties calculator. *Nucleic Acids Res* 35(Web Server issue):W43-46.
- King, T.E., Bowden, G.R., Belaresque, P.L., Adams, S.M., Shanks, M.E., and Jobling, M.A. 2007. Thomas Jefferson's Y chromosome belongs to a rare European lineage. *Am. J. Phys. Anthropol.* 132: 583–589.
- Kruskal J. 1964 a. Multidimensional scaling by optimizing goodness of fit to a nonmetric hypothesis. *Psychometrika.* 29:1-27.
- Kruskal J. 1964 b. Nonmetric multidimensional scaling: a numerical method. *Psychometrika.* 29:115-129.
- Lahn, B. T. y Page, D. C. Four evolutionary strata on the human X chromosome. 1999 *Science* 286, 964–967.
- Lattes AE. 1973. Las migraciones en la Argentina entre mediados del siglo XIX y 1960. *Desarrollo Económico*; XII(48):1–20.
- Lell, J. T., Sukernik, R. I., Starikovskaya, Y. B., Su, B., Jin, L., Schurr, T. G., Underhill P.A., Wallace, D. C. 2002. The Dual Origin and Siberian Affinities of Native American Y Chromosomes. *American Journal of Human Genetics*, 70(1), 192–206.
- Lorandi, A. M. 1988. Los diaguitas y el Tawantinsuyu: Una hipótesis de conflicto. *La frontera del Estado inca*, 197.
- López, K.H; Jones, R.E. 2006. *Human Reproductive Biology*; Chapter five: Sexual Differentiation. (Third edition). Pages 127- 148.
- Malyarchuk B, Derenko M, Denisova G, Maksimov A, Wozniak M, Grzybowski T, Dambueva I, and Zakharov I. 2011. Ancient links between Siberians and Native Americans revealed by subtyping the Y chromosome haplogroup Q1a. *J Hum Genet* 56(8):583-588.
- Manni F, Guérard E, Heyer E. 2004. Geographic patterns of (genetic, morphologic, linguistic) variation: how barriers can be detected by —Monmonier's algorithm—. *Human Biology*; 76(2): 173-190.

- Martínez Sarasola C. 1992. Nuestros Paisanos los Indios. Primera Edición. Emecé Editores S.A. Alcina2041/49, Buenos Aires. ISBN 950-04.11.53-0 27.104.
- Martínez-Marignac VL, Bailliet G, Dipierri JE, Alfaro EL, López-Camelo JS, Bianchi NO. 2001. Variabilidad y antigüedad de linajes holándricos en poblaciones jujeñas. *Revista Argentina de Antropología Biológica* 3(1):65-78.
- Messina F, Finocchio A, Rolfo MF, De Angelis F, Rapone C, Coletta M, Martínez-Labarga C, Biondi G, Berti A, y Rickards O. 2015. Traces of forgotten historical events in mountain communities in Central Italy: A genetic insight. *Am J Hum Biol* 27(4):508-519.
- Mezzavilla, M., Geppert, M., Tyler-Smith-Smith, C., Roewer, L., Xue, Y. 2014. Insights into the origin of rare haplogroup C3* Y chromosomes in South America from high-density autosomal SNP genotyping. *Forensic Science International: Genetics*, 15:115-120, DOI:10.1016/j.fsigen.2014.11.005.
- Miller SA, Dykes DD, and Polesky HF. 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16(3):1215.
- Morales, J., Alfaro, E., Dipierri, J., Bejrano, I., 2003. Apellidos y sistema Rh (D/d) en poblaciones jujeñas. *Rev. Argent. Antropol.Biol.* 5, 7–13.
- Motti, Josefina María Brenda 2012. Tesis: Caracterización de linajes maternos en la población actual del Noroeste y Centro-Oeste argentinos. N° Acta 1231. Director: Bravi, Claudio Marcelo, Co-Director: Bailliet, Graciela. La Plata: Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.
- Mueller, J. L., Skaletsky, H., Brown, L. G., Zaghul, S., Rock, S., Graves, T., Auger, K., Warren W. C., Wilson, R. K., Page, D. C. 2013. Independent specialization of the human and mouse X chromosomes for the male germline. *Nature Genetics*, 45(9), 1083–1087. doi:10.1038/ng.2705.
- Myres NM, Rootsi S, Lin AA, Jarve M, King RJ, Kutuev I, Cabrera VM, Khusnutdinova EK, Pshenichnov A, Yunusbayev B., Balanovsky O, Balanovska E, Rudan P, Baldovic M, Herrera RJ, Chiaroni J, Di Cristofaro J, Villems R, Kivisild T, Underhill PA. 2011. A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe. *Eur J Hum Genet* 19(1):95-101.
- Muzzio, Marina 2009. Tesis: Isonimia y cromosoma Y. ¿Concordancia o conflicto? N° Acta 1062. Directora: Bailliet, Graciela; Co-Director: Bravi, Claudio Marcelo. La Plata: Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.
- Muzzio M, Muzzio JC, Bravi CM, and Bailliet G. 2010. Technical note: A method for assignment of the weight of characters. *American Journal of Physical Anthropology* 143(3):488-492.
- Nasidze, I., Quinque, D., Ozturk, M., Bendukidze, N., and Stoneking, M. 2005. MtDNA and Y-chromosome variation in Kurdish groups. *Ann.Hum. Genet.* 69: 401–412.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations. *Am Nat* 106:283-292.
- Nei M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia Univ. Press, New York.
- Núñez C, Geppert M, Baeta M, Roewer L, Martínez-Jarreta B. 2012. Y chromosome haplogroup diversity in a Mestizo population of Nicaragua. *Forensic Sci Int Genet*, Dec;6(6):e192-5.

- Parolin, M. L., Avena, S. A., Dejean, C. B., Jaureguiberry, S. M., Sambuco, L. A., y Carnese, F. R. 2012. Y-Chromosomal STR haplotype diversity in a sample from The Metropolitan Area of Buenos Aires (Argentina). *Revista del Museo de Antropología*, 5(1), 53-64.
- Paz, GL. 2008. Los pueblos de indios del Tucumán colonial revisitados: De la desestructuración a la identidad. *Andes* [online]. 2008, n.19, pp. 213-224. ISSN 1668-8090.
- Pena SD, Santos FR, Bianchi NO, Bravi CM, Carnese FR, Rothhammer F, Gerelsaikhan T, Munkhtuja B, and Oyunsuren T. 1995. A major founder Y-chromosome haplotype in Amerindians. *Nat Genet* 11(1):15-16.
- Peña, H.F., Salzano, F.M., Da Rocha, F., 1972. Dermatoglyphic of Brazilian Cayapo Indians. *Hum. Biol.* 44, 225–241.
- Poznik GD, Henn BM, Yee MC, Sliwerska E, Euskirchen GM, Lin AA, Snyder M, Quintana-Murci L, Kidd JM, Underhill PA. 2013. Sequencing Y chromosomes resolves discrepancy in time to common ancestor of males versus females. *Science* 341:562–565.
- Ramallo, Virginia 2009. Tesis: Caracterización del perfil genético de la población actual de Azampay, Catamarca. N° Acta 1052. Directora: Bailliet, Graciela; Co-Directora: Salceda, Susana. La Plata: Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Naturales y Museo.
- Ramallo V, Alfaro EL, Dipierri JE, Bianchi NO, Bailliet G. "Caracterización de linajes paternos en muestras provenientes de tres provincias del NOA" .XXXIV Congreso Argentino de Genética. Trelew, Chubut 11 al 14 de septiembre de 2005.
- Ramallo V, Mucci JM, García A, Muzzio M, Motti JMB, Santos MR, Pérez ME, Alfaro EL, Dipierri JE, Demarchi DA., Bravi C. M., Bailliet G. 2009. Comparison of Y-chromosome haplogroup frequencies in eight Provinces of Argentina. *Forensic Science International: Genetics Supplement Series* 2(1):431-432.
- Ramallo V, Salceda S, Bailliet G. Estudio de marcadores moleculares del cromosoma Y en comunidades aborígenes del noroeste formoseño. XXVI Encuentro de Geohistoria Regional. Resistencia, Chaco 17-19 de agosto de 2006a.
- Ramallo V, Salceda S, Bailliet G. Identificación y análisis de linajes masculinos en comunidades aborígenes de Noroeste Formoseño. XXXVI Congreso Argentino de Genética. Pergamino, Buenos Aires. 23 al 26 septiembre de 2007a.
- Rangel-Villalobos H, Munoz-Valle JF, Gonzalez-Martin A, Gorostiza A, Magana MT, and Paez-Riberos LA. 2008. Genetic admixture, relatedness, and structure patterns among Mexican populations revealed by the Y-chromosome. *Am J Phys Anthropol* 135(4):448-461.
- Rasmus Nielsen 2005. Peopling the Americas. *European Journal of Human Genetics* 13, 1100101.
- Rasmussen M, Anzick SL, Waters MR, Skoglund P, DeGiorgio M, Stafford TW Jr, Rasmussen S, Moltke I, Albrechtsen A, Doyle SM, Poznik GD, Gudmundsdottir V, Yadav R, Malaspina AS, White SS 5th, Allentoft ME, Cornejo OE, Tambets K, Eriksson A, Heintzman PD, Armin M, Korneliussen TS, Meltzer DJ, Pierre TL, Stenderup J, Saag L, Warmuth VM, Lopes MC, Malhi RS, Brunak S, Sicheritz-Ponten T, Barnes I, Collins M, Orlando L, Balloux F, Manica A, Gupta R, Metspalu M, Bustamante CD, Jakobsson M, Nielsen R, Willerslev E. 2014. The genome of a Late Pleistocene human from a Clovis burial site in western Montana. *Nature*. Feb 13;506(7487):225-9.
- Raymond M, Rousset F. 1995. An exact test for population differentiation. *Evolution*; 49:1280-1283

- Regueiro M, Alvarez J, Rowold D, Herrera RJ. 2013. On the origins, rapid expansion and genetic diversity of Native Americans from hunting-gatherers to agriculturalists. *Am J Phys Anthropol.* Mar;150(3):333-48.
- Regueiro, M., Cadenas, A.M., Gayden, T., Underhill, P.A., and Herrera, R.J. 2006. Iran: Tricontinental nexus for Y-chromosome driven migration. *Hum. Hered.* 61: 132–143.
- Reich D, Patterson N, Campbell D, Tandon A, Mazieres S, Ray N, Parra MV, Rojas W, Duque C, Mesa N Garcia L. F., Triana O., Blair S., Maestre A., Dib J.C., Bravi C. M., Bailliet G., Corach D., Hünemeier T., Bortolini M. C., Salzano F. M., Petzl-Erler M. L., Acuña-Alonso V., Agular-Salinas C., Canizales-Quinteros S., Tusie-Luna T., Riba L., Rodriguez-Cruz M., Lopez-Alarcon M., Coral-Vazquez R., Canto-Cetina T., Silva-Zolezzi I., Fernandez-Lopez J. C., Contreras A. V., Jimenez-Sanchez G., Gomez-Vazquez M., Molina J., Carracedo A., Salas A., Gallo C., Poletti G., Witonsky D. B., Alkort-Aranburu G., Sukernik R., Osipova L., Federova S., Vasquez R., Villena M., Moreau C., Barrantes R., Pauls D., Excoffier L., Bedoya G., Rothhammer F., Dugoujon J. M., Larrouy G., Klitz W., Labuda D., Kidd J., Kidd K., Di Renzo A., Freimer N. B., Price A. L., Ruiz-Linares A. 2012. Reconstructing Native American population history. *Nature* 488(7411):370-374.
- Rivero D, Berberian E. 2008. El poblamiento de la región central del territorio argentino durante la transición Pleistoceno-Holoceno (12.000–9.000 AP). *Revista Española de Antropología;* 38:17–37.
- Robino C, Crobu F, Di Gaetano C, Bekada A, Benhamamouch S, Cerutti N, Piazza A, Inturri S, Torre C. 2008. Analysis of Y-chromosomal SNP haplogroups and STR haplotypes in an Algerian population sample. *Int J Legal Med.* May;122(3):251-5.
- Roewer L, Nothnagel M, Gusmão L, Gomes V, González M, Corach D, Sala A, Alechine E, Palha T, Santos N, Ribeiro-Dos-Santos A, Geppert M, Willuweit S, Nagy M, Zweynert S, Baeta M, Núñez C, Martínez-Jarreta B, González-Andrade F, Fagundes de Carvalho E, da Silva DA, Builes JJ, Turbón D, Lopez Parra AM, Arroyo-Pardo E, Toscanini U, Borjas L, Barletta C, Ewart E, Santos S, Krawczak M. 2013. Continent-wide decoupling of Y-chromosomal genetic variation from language and geography in native South Americans. *PLoS Genet.* Apr;9(4):e1003460. doi: 10.1371/journal.pgen.1003460.
- Romero, JL. 1977. *Historia Argentina*. Fondo De Cultura Economica. 214 paginas, 280 gramos, Rústica .Idioma: Castellano. ISBN: 9789505579730
- Rootsi, S., Magri, C., Kivisild, T., Benuzzi, G., Help, H., Bermisheva, M., Kutuev, I., Barac, L., Pericic, M., Balanovsky, O., Pshenichnov A, Dion D, Grobei M, Zhivotovsky LA, Battaglia V, Achilli A, Al-Zahery N, Parik J, King R, Cinnioğlu C, Khusnutdinova E, Rudan P, Balanovska E, Scheffrahn W, Simonescu M, Brehm A, Goncalves R, Rosa A, Moisan JP, Chaventre A, Ferak V, Füredi S, Oefner PJ, Shen P, Beckman L, Mikerezi I, Terzić R, Primorac D, Cambon-Thomsen A, Krumina A, Torroni A, Underhill PA, Santachiara-Benerecetti AS, Villems R, Semino O. 2004. Phylogeography of Y-chromosome haplogroup I reveals distinct domains of prehistoric gene flow in Europe. *Am. J. Hum. Genet.* 75: 128–137.
- Rootsi S, Myres NM, Lin AA, Jarve M, King RJ, Kutuev I, Cabrera VM, Khusnutdinova EK, Varendi K, Sahakyan H., Behar DM, Khusainova R, Balanovsky O, Balanovska E, Rudan P, Yepiskoposyan L, Bahmanimehr A, Farjadian S, Kushniarevich A, Herrera RJ, Grugni V, Battaglia V, Nici C, Crobu F, Karachanak S, Hooshiar Kashani B, Houshmand M, Sanati MH, Toncheva D, Lisa A, Semino O, Chiaroni J, Di Cristofaro J, Villems R, Kivisild T, Underhill PA. 2012. Distinguishing the co-ancestries of haplogroup G Y-chromosomes in the populations of Europe and the Caucasus. *Eur J Hum Genet* 20(12):1275-1282.

- Rootsi, S., Zhivotovsky, L.A., Baldovic, M., Kayser, M., Kutuev, I.A., Khusainova, R., Bermisheva, M.A., Gubina, M., Fedorova, S.A., Ilumae, A.M., Khusnutdinova EK, Voevoda MI, Osipova LP, Stoneking M, Lin AA, Ferak V, Parik J, Kivisild T, Underhill PA, Villems R. 2007. A counter-clockwise northern route of the Y-chromosome haplogroup N from Southeast Asia towards Europe. *Eur. J. Hum. Genet.* 15: 204–211.
- Rosenberg, M.S., and C.D. Anderson (2011) PASSaGE: Pattern Analysis, Spatial Statistics and Geographic Exegesis. Version 2. *Methods in Ecology and Evolution* 2(3):229-232.
- Ruiz-Linares A, Ortiz-Barrientos D, Figuerola M, Mesa N, Munera JG, Bedoya G, Velez ID, Garcia LF, Perez-Lezaun A, Bertranpetit J, Feldman MW, Goldstein DB. 1999. Microsatellites provide evidence for Y chromosome diversity among the founders of the New World. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96(11):6312-6317.
- Sanchez J.J., Børsting C., Hallenberg C., Buchard A., Hernandez A., Morling N. 2003. Multiplex PCR and minisequencing of SNPs— a model with 35 Y chromosome SNPs. *Forensic Science International* 137, 74–84.
- Sandoval K, Moreno-Estrada A, Mendizabal I, Underhill PA, Lopez-Valenzuela M, Peñaloza-Espinosa R, Lopez-Lopez M, Buentello-Malo L, Avelino H, Calafell F, Comas D. 2012. Y-chromosome diversity in Native Mexicans reveals continental transition of genetic structure in the Americas. *Am J Phys Anthropol*;148(3):395-405.
- Santos, F. R., M. Hutz, C. E. A. Coimbra, R. V. Santos, F. M. Salzano, and S. D. J. Pena. 1995. Further evidence for the existence of a major founder Y chromosome haplotype in Amerindians. *Braz. J. Genet.* 18:669–672.
- Santos FR, Bianchi NO, and Pena SD. 1996. Worldwide distribution of human Y-chromosome haplotypes. *Genome Res* 6(7):601-611.
- Santos F. R., Pandya A., Tyler-Smith, C., Pena S. D., Schanfield M., Leonard W. R., Osipova L., Crawford M. H., Mitchell R. J. 1999. The central Siberian origin for native American Y chromosomes. *American Journal of Human Genetics*, 64(2), 619–628
- Scheinfeldt, L., Friedlaender, F., Friedlaender, J., Latham, K., Koki, G., Karafet, T., Hammer, M., and Lorenz, J. 2006. Unexpected NRY chromosome variation in Northern Island Melanesia. *Mol. Biol. Evol.* 23: 1628–1641.
- Schlötterer C y Wiehe T. 1999. Microsatellites, a neutral marker to infer selective sweeps. Págs 238-247 en: Goldstein DB y Schlötterer C. (Eds). *Microsatellites: Evolution and Applications*. Oxford University Press. Oxford.
- Schurr TG, and Sherry ST. 2004. Mitochondrial DNA and Y chromosome diversity and the peopling of the Americas: evolutionary and demographic evidence. *Am J Hum Biol* 16(4):420-439.
- Scozzari R, Massaia A, Trombetta B, Bellusci G, Myres NM, Novelletto A, Cruciani F. 2014. An unbiased resource of novel SNP markers provides a new chronology for the human Y chromosome and reveals a deep phylogenetic structure in Africa. *Genome Res.* 24: 535–544.
- Seielstad M, Yuldasheva N, Singh N, Underhill P, Oefner P, Shen P, and Wells RS. 2003. A novel Y-chromosome variant puts an upper limit on the timing of first entry into the Americas. *Am J Hum Genet* 73(3):700-705.
- Semino O, Magri C, Benuzzi G, Lin AA, Al-Zahery N, Battaglia V, Maccioni L, Triantaphyllidis C, Shen P, Oefner PJ, Zhivotovsky LA, King R, Torroni A, Cavalli-Sforza LL, Underhill PA,

- Santachiara-Benerecetti AS. 2004. Origin, diffusion, and differentiation of Y-chromosome haplogroups E and J: inferences on the neolithization of Europe and later migratory events in the Mediterranean area. *Am J Hum Genet* 74(5):1023-1034.
- Semino O, Passarino G, Oefner PJ, Lin AA, Arbuzova S, Beckman LE, De Benedictis G, Francalacci P, Kouvatsi A, Limborska S, Marcikiae M, Mika A, Mika B, Primorac D, Santachiara-Benerecetti AS, Cavalli-Sforza LL, Underhill PA. 2000. The genetic legacy of Paleolithic Homo sapiens sapiens in extant Europeans: a Y chromosome perspective. *Science* 290(5494):1155-1159.
- Semino, O., Santachiara-Benerecetti, A.S., Falaschi, F., Cavalli-Sforza, L.L., and Underhill, P.A. 2002. Ethiopians and Khoisan share the deepest clades of the human Y-chromosome phylogeny. *Am. J. Hum. Genet.* 70: 265–268.
- Sengupta S, Zhivotovsky LA, King R, Mehdi SQ, Edmonds CA, Chow CE, Lin AA, Mitra M, Sil SK, Ramesh A, Usha Rani MV, Thakur CM, Cavalli-Sforza LL, Majumder PP, Underhill PA. 2006. Polarity and temporality of high-resolution Y-chromosome distributions in India identify both indigenous and exogenous expansions and reveal minor genetic influence of Central Asian pastoralists. *Am. J. Hum. Genet.* 78: 202–221.
- Shen P, Wang F, Underhill PA, Franco C, Yang WH, Roxas A, Sung R, Lin AA, Hyman RW, Vollrath D, Davis RW, Cavalli-Sforza LL, Oefner PJ. 2000. Population genetic implications from sequence variation in four Y chromosome genes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 7354–7359
- Sims, L.M., Garvey, D., and Ballantyne, J. 2007. Sub-populations within the major European and African derived haplogroups R1b3 and E3a are differentiated by previously phylogenetically undefined Y-SNPs. *Hum Mutat.* Jan;28(1):97
- Deng W1, Shi B, He X, Zhang Z, Xu J, Li B, Yang J, Ling L, Dai C, Qiang B, Shen Y, Chen R 2004. Evolution and migration history of the Chinese population inferred from Chinese Y-chromosome evidence. *J. Hum. Genet.* 49: 339–348.
- Skaletsky H, Kuroda-Kawaguchi T, Minx PJ, Cordum HS, Hillier L, Brown LG, Repping S, Pyntikova T, Ali J, Bieri T., Chinwalla A, Delehaunty A, Delehaunty K, Du H, Fewell G, Fulton L, Fulton R, Graves T, Hou SF, Latrielle P, Leonard S, Mardis E, Maupin R, McPherson J, Miner T, Nash W, Nguyen C, Ozersky P, Pepin K, Rock S, Rohlfing T, Scott K, Schultz B, Strong C, Tin-Wollam A, Yang SP, Waterston RH, Wilson RK, Rozen S, Page DC. 2003. The male-specific region of the human Y chromosome is a mosaic of discrete sequence classes. *Nature* 423(6942):825-837.
- Sokal RR y Oden NL. 1978. Spatial autocorrelation in biology. 1. Methodology. *Biological Journal of the Linnean Society.* 16:199-228.
- Srozen S. y Skaletsky H. J. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S, Misener S (eds) *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp 365-386
- Su, B., Jin, L., Underhill, P., Martinson, J., Saha, N., McGarvey, S.T., Shriver, M.D., Chu, J., Oefner, P., Chakraborty, R, Deka R. 2000. Polynesian origins: Insights from the Y chromosome. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 97: 8225–8228
- Tamm, E., Kivisild, T., Reidla, M., Metspalu, M., Glenn Smith, D., Mulligan, C.J., Bravi, C.M., Rickards, O., Martinez-Labarga, C., Khusnutdinova, E.K., Fedorova, S.A., Golubenko, M.V., Stepanov, V.A., Gubina, M.A., Zhadanov, S.I., Ossipova, I.P., Damba, L., Voevoda, M.I.,

- Dipierri, J.E., Villems, R., Malhi, R.S., 2007. Beringian standstill and spread of Native American founders. *PLoS ONE* 9 (829), 1–6.
- Tamura K, Dudley J, Nei M, and Kumar S. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Mol Biol Evol* 24(8):1596-1599.
- Tarazona-Santos E, Carvalho-Silva DR, Pettener D, Luiselli D, De Stefano GF, Labarga CM, Rickards O, Tyler-Smith-Smith C, Pena SD, and Santos FR. 2001. Genetic differentiation in South Amerindians is related to environmental and cultural diversity: evidence from the Y chromosome. *Am J Hum Genet* 68(6):1485-1496.
- Thangaraj, K., Singh, L., Reddy, A.G., Rao, V.R., Sehgal, S.C., Underhill, A., Pierson, M., Frame, I.G., and Hagelberg, E. 2003. Genetic affinities of the Andaman Islanders, a vanishing human population. *Curr. Biol.* 13: 86–93.
- Tilford CA, Kuroda-Kawaguchi T, Skaletsky H, Rozen S, Brown LG, Rosenberg M, McPherson JD, Wylie K, Sekhon M, Kucaba TA, Waterston R. H., Page D. C. 2001. A physical map of the human Y chromosome. *Nature* 409(6822):943-945.
- Torroni, A., Schurr, T. G., Yang, C., Szathmary, E. J. E., Williams, R. C., Schanfield, M. S., Troup, C. A., Knowler, W. C., Lawrence, D. N., Weiss, K. M., Wallace, D. C. 1992. Native American Mitochondrial DNA Analysis Indicates That the Amerind and the Nadene Populations Were Founded by Two Independent Migrations. *Genetics*. 130, 153–162.
- Toscanini U, Gusmão L, Berardi G, Gomes V, Amorim A, Salas A, Raimondi E. 2011. Male lineages in South American native groups: evidence of M19 traveling south. *Am J Phys Anthropol.* Oct;146(2):188-96.
- Umetsu, K., Tanaka, M., Yuasa, I., Adachi, N., Miyoshi, A., Kashimura, S., Park, K. S., Wei, Y.-H., Watanabe, G. And Osawa, M. 2005. Multiplex amplified product-length polymorphism analysis of 36 mitochondrial single-nucleotide polymorphisms for haplogrouping of East Asian populations. *ELECTROPHORESIS*, 26: 91–98.
- Umetsu, K., Tanaka, M., Yuasa, I., Saitou, N., Takeyasu, T., Fuku, N., Naito, E., Ago, K., Nakayashiki, N., Miyoshi, A., Kashimura, S., Watanabe, G. And Osawa, M. 2001. Multiplex amplified product-length polymorphism analysis for rapid detection of human mitochondrial DNA variations. *ELECTROPHORESIS*, 22: 3533–3538.
- Underhill PA, Jin L, Zemans R, Oefner PJ, and Cavalli-Sforza LL. 1996. A pre-Columbian Y chromosome-specific transition and its implications for human evolutionary history. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93(1):196-200.
- Underhill PA, Myres NM, Rootsi S, Metspalu M, Zhivotovsky LA, King RJ, Lin AA, Chow CE, Semino O, Battaglia V., Kutuev I, Järve M, Chaubey G, Ayub Q, Mohyuddin A, Mehdi SQ, Sengupta S, Rogaev EI, Khusnutdinova EK, Pshenichnov A, Balanovsky O, Balanovska E, Jeran N, Augustin DH, Baldovic M, Herrera RJ, Thangaraj K, Singh V, Singh L, Majumder P, Rudan P, Primorac D, Villems R, Kivisild T. 2010. Separating the post-Glacial coancestry of European and Asian Y chromosomes within haplogroup R1a. *Eur J Hum Genet* 18(4):479-484.
- Underhill PA, Passarino G, Lin AA, Shen P, Mirazon Lahr M, Foley RA, Oefner PJ, and Cavalli-Sforza LL. 2001. The phylogeography of Y chromosome binary haplotypes and the origins of modern human populations. *Ann Hum Genet* 65(Pt 1):43-62.
- Underhill PA, Shen P, Lin AA, Jin L, Passarino G, Yang WH, Kauffman E, Bonne-Tamir B, Bertranpetit J, Francalacci P, Ibrahim M, Jenkins T, Kidd JR, Mehdi SQ, Seielstad MT,

- Wells RS, Piazza A, Davis RW, Feldman MW, Cavalli-Sforza LL, Oefner PJ. 2000 . Y chromosome sequence variation and the history of human populations. *Nat Genet* 26:358–361.
- van Oven M, Van Geystelen A, Kayser M, Decorte R, Larmuseau MH. 2014. Seeing the wood for the trees: a minimal reference phylogeny for the human Y chromosome. *Hum Mutat*. Feb;35(2):187-91.
- Wang S, Lewis CM Jr, Jakobsson M, Ramachandran S, Ray N, Bedoya G., Rojas W., Parra M. V., Molina J., Gallos C., Mazzottis G. P., Hill K., Hurtado A. M., Labuda D., Klitz W., Barrantes R., Bortolini M. C., Salzano F., Petzl M. L., Tsuneto L. T., Llop E., Rothhammer F., Excoffier L., Fedelman M. W., Rosenberg N. A., Ruiz-Linares A. 2007. Genetic variation and population structure in Native Americans. *PLoS Genet* 3(11): e185. doi:10.1371/journal.pgen.0030185
- Wang S, Ray N, Rojas W, Parra MV, Bedoya G, Gallo C, Poletti G, Mazzotti G, Hill K, Hurtado AM, Camrena B, Nicolini H, Klitz W, Barrantes R, Molina JA, Freimer NB, Bortolini MC, Salzano FM, Petzl-Erler ML, Tsuneto LT, Dipierri JE, Alfaro EL, Bailliet G, Bianchi NO, Llop E, Rothhammer F, Excoffier L, Ruiz-Linares A. 2008. Geographic Patterns of Genome Admixture in Latin American Mestizos. *PLoS Genetics* 4(3):e1000037. doi:10.1371/journal.pgen.1000037.
- Wells RS, Yuldasheva N, Ruzibakiev R, Underhill PA, Evseeva I, Blue-Smith J, Jin L, Su B, Pitchappan R, Shanmugalakshmi S, Balakrishnan K., Read M., Pearson NM., Zerjal T., Webster MT., Zholoshvili I., Jamarjashvili E., Gambarov S., Nikbin B., Dostiev A., Aknazarov O., Zalloua P., Tsoy I., Kitaev M., Mirrakhimov M., Chariev A., and Bodmer WF. 2001. The Eurasian Heartland: A continental perspective on Y-chromosome diversity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(18):10244-10249.
- Wood, E.T., Stover, D.A., Ehret, C., Destro-Bisol, G., Spedini, G., McLeod, H., Louie, L., Bamshad, M., Strassmann, B.I., Soodyall, H., Hammer MF. 2005. Contrasting patterns of Y chromosome and mtDNA variation in Africa: Evidence for sex-biased demographic processes. *Eur. J. Hum. Genet.* 13: 867–876
- Wright S. 1978 *Evolution and the Genetics of Populations*. Chicago: University of Chicago Press.
- Y Chromosome Consortium. 2002. A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genome Res.* 12: 339–348.
- Zegura SL, Karafet TM, Zhivotovsky LA, and Hammer MF. 2004. High-resolution SNPs and microsatellite haplotypes point to a single, recent entry of Native American Y chromosomes into the Americas. *Mol Biol Evol* 21(1):164-175.
- Zhao YB, Zhang Y, Li HJ, Cui YQ, Zhu H, Zhou H. 2014. Ancient DNA evidence reveals that the Y chromosome haplogroup Q1a1 admixed into the Han Chinese 3,000 years ago. *Am J Hum Biol.* Nov-Dec;26(6):813-21.
- Zhong H, Shi H, Qi XB, Duan ZY, Tan PP, Jin L, Su B, Ma RZ. 2010. Extended Y chromosome investigation suggests postglacial migrations of modern humans into East Asia via the northern route. *Mol Biol Evol* 28(1):717–727
- Zuccarelli G., Alechine E., Caputo M., Bobillo C., Corach D, Sala A. 2010. Rapid screening for Native American mitochondrial and Y-chromosome haplogroups detection in routine DNA analysis. *Forensic Science International: Genetics*. Vol 5, Issue 2, 105-108.

Anexo 1: Aprobación comités de ética:

COMITÉ PROVINCIAL DE BIOÉTICA PROVINCIA DE JUJUY

San Salvador de Jujuy, 8 de Agosto del 2006.

Ref. "Origen étnico de la diversidad genética en la población argentina actual"
--

El Comité de Bioética de la Provincia de Jujuy (CPBJ), previo análisis y evaluación de los criterios científicos, éticos y jurídicos del Protocolo de Investigación presentado por el Dr. J. E. Dipierri, aprueba sin observaciones la presente solicitud y autoriza su realización.

Se Solicita la remisión de los resultados una vez concluida la investigación.

Objetivo: Identificar posibles linajes fundadores americanos, no DYS199T y de asignar el posible origen geográfico de los haplogrupos a fin de describir la participación de los linajes paternos en el poblamiento de la Argentina y sus regiones.

Director: Dr. J. E. Dipierri

Co director: Lic. E. L. Alfaro

Centros participantes:

Cátedra de Antropología Biológica. Facultad de Humanidades y Ciencias Sociales. Universidad Nacional de Jujuy.

Unidad de Investigación de Genética Molecular Poblacional. Instituto Multidisciplinario de Biología Celular. IMBICE. La Plata

Tamaño de la muestra: El tamaño muestral debe evaluarse constantemente y si bien resulta muy difícil de estimar con exactitud el número de individuos a ser incluidos, se incluirán un mínimo de 25 y un máximo de 100 individuos según la subdivisión poblacional considerada.

Estudios. Se analizarán muestras biológicas recolectadas por el equipo de investigadores y provenientes de Bancos de Sangre de la Argentina, particularmente del Noroeste argentino.

Se evaluará la concordancia entre apellidos y linajes paternos en los individuos estudiados molecularmente a fin de validar los métodos isonímicos y genealógicos tradicionales.

Criterios de inclusión y exclusión: Detallados y claros

Ministerio de Salud



Comisión de
Investigaciones Científicas
Gobierno de la Provincia
de Buenos Aires

La Plata, 13 de Agosto de 2009.-

Dra. Graciela Bailliet
Dr. Claudio M. Bravi
IMBICE
S/D

Estimados Dres. Bailliet / Bravi:

Tenemos el agrado de dirigirnos a uds. con el objeto de informarles que el Comité de Ética en Investigaciones Biomédicas del IMBICE evaluó y aprobó las modificaciones incorporadas al texto de la Cartilla de Información para el Donante y a la organización del formulario de Consentimiento Informado, ambos elaborados en el marco del Proyecto "Aportes continentales diferenciales en la conformación de las poblaciones humanas de América Latina", que planean desarrollar en el laboratorio de Genética Molecular Poblacional del IMBICE.

Sin otro particular saludamos a uds. atentamente.

Dra. Lidia A. Vidal Rioja

Comité de Ética en Investigaciones Biomédicas
IMBICE

Dra. Lidia A Vidal Rioja - Coordinador
Dr. Ricardo S. Calandra



Comité Institucional de Ética de Investigación en Salud.

FORMULARIO DE RECEPCION PROTOCOLOS Y ENMIENDAS.

Patrocinador:

Laboratorio de Genética Molecular Poblacional
Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE)

Identificación del Protocolo: 017/2009.

Fecha de Aprobación: 04/11/2009.

Fecha de Aprobación de

Consentimiento Informado: 04 /11 /2009

Aprobación: ☒ Si ☐ No

Fecha de Aprobación: 04 /11 /2009.

Fecha de Expiración: 04 /11 /2010.



Comité Institucional de Ética de Investigación en Salud.

Domicilio: Hospital Regional "Dr. Ramón Carrillo"

Av. Belgrano (s) N° 2273 CP 4200 Santiago del Estero

e-mail: cieis_sgo@yahoo.com.ar

Comité Institucional de Ética de Investigación en Salud (CIEIS) de la Provincia de Santiago del Estero, creado por **DECRETO N° 1.489/05, de 26 de diciembre de 2005.**

Reglamento Interno del CIEIS, **Aprobado mediante RESOLUCION MINISTERIAL N° 950/07, del 27 de Mayo de 2007**, destinado a normatizar el funcionamiento del comité.

Este Comité tiene por objeto evaluar los Protocolos de Investigación presentados por investigadores en el ámbito de la provincia de Santiago del Estero, sean apropiados desde el punto de vista técnico y ético.

Asegurar que los gastos que demande la investigación no recaigan en la institución en la que se realiza, ni en la cobertura médica del paciente, ni en el paciente mismo.

El CIEIS esta Integrado por miembros designados por el órgano de su creación, escogidos en el ámbito provincial, que representen a las distintas instituciones y comunidad, con conocimientos y experiencia en el campo específico de la investigación, sus decisiones son definitivas en la habilitación del protocolo en la provincia.

El CIEIS funciona en el Hospital Regional Dr. Ramón Carrillo, con domicilio en Belgrano (s) 2273, Ciudad, Santiago del Estero, y sus autoridades para el periodo de gestión 2008-2010, son:

- Presidente: Dr. Rafael Eduardo Manzur.
- Vicepresidente: Dr. José Trejo.
- Secretaria de Actas: Lic. María Rosa Ledesma.
- Prosecretario: Lic. Exequiel Federico Duarte.

Anexo 2: Consentimiento Informado

Consentimiento Informado del Proyecto de Investigación

“Aportes continentales diferenciales en la conformación de las poblaciones humanas de América Latina” Yo,, DNI N°.....con domicilio legal en calle_N°....._de la localidad de de la provincia de declaro que he sido informado sobre la realización de un estudio genético para conocer el origen o procedencia de los antepasados de los habitantes actuales de América y averiguar qué proporción de ellos es originaria de este continente o bien llegó aquí desde Europa, Asia o África.

Manifiesto acceder voluntariamente a participar en este proyecto, del cual he sido informado a través de una entrevista con miembros del grupo de investigación (abajo firmantes), quienes me comunicaron ampliamente sobre las características y alcances del estudio y me entregaron una hoja de —Información para el Participantell donde se detallan los objetivos, características genéticas a investigar, metodología, beneficios, riesgos y confidencialidad de los datos. Luego de leer esta hoja de información he podido realizar libremente cualquier pregunta relacionada con el proyecto.

Comprendo las características del trabajo y acepto libre y voluntariamente que me sea tomada una muestra de sangre o de saliva para ser utilizada en el presente estudio. Acepto además aportar datos sobre el origen o procedencia de mis padres, abuelos y bisabuelos para los fines indicados en la hoja de información. He comprendido que si lo deseo puedo retirarme de la investigación sin tener que dar explicaciones, como así también solicitar los datos obtenidos con mi muestra y reclamar la muestra sobrante del estudio.

La extracción de sangre o saliva (tachar lo que no corresponda) fue realizada por....._Cargo....._DNI:.....

La muestra es recibida por el investigador responsable quien la codifica y archiva el consentimiento informado en el Laboratorio de Bioantropología de la Universidad Nacional de Jujuy. La toma de la muestra y su codificación se realizó ante la presencia del/los testigos abajo firmantes.

Dado a los.....días del mes de.....de 20....

Firma del donante Aclaración y DNI

Firma y cargo del entrevistador Aclaración y DNI

Firma y cargo del extraccionista Aclaración y DNI

Firma del testigo Aclaración y DNI

Investigadores Responsables: Dr. Claudio Bravi - Dra. Graciela Bailliet

Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), Calle 526 e/ 10 y 11, La Plata.

TeleFax: (0221) 421-0112

Anexo 3: Encuesta genealogica

VARÓN

MUJER

Muestra N° _____

DONANTE

Apellido y nombres (edad)

DONANTE

Lugar de nacimiento (localidad o paraje / departamento / provincia / país)

1- PADRE

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

2- ABUELO PATERNO

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

3- ABUELA PATERNA

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

4- MADRE

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

5- ABUELO MATERNO

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

6- ABUELA MATERNA

Apellido y Nombres Lugar de nacimiento (localidad / departamento / provincia / país)

Favor de preguntar al donante si sabe que alguno de sus padres/abuelos es/era descendiente de inmigrantes o perteneciente a alguna parcialidad socio-étnica (por ejemplo judío sefaradí, árabe, criollo, nativo, aborigen, etc.).

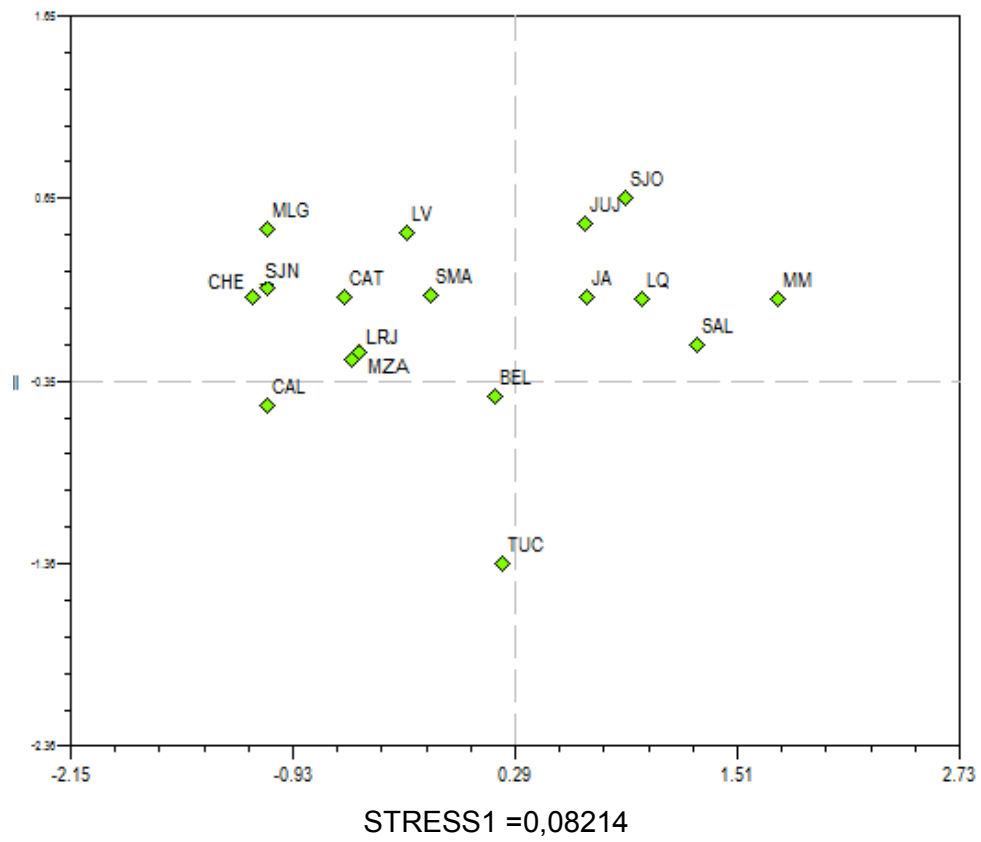
Cuando el donante desconoce el lugar de nacimiento de algún ancestro, favor de consignar el lugar de residencia habitual (e indicar en la encuesta con la leyenda —vive o vivía enll)

Anexo 4: Oligonucleótidos empleados para el método de caracterización por APLP, agregados por grupos de múltiplex. En minúscula se indican bases y agregados 5' no complementarios

SNP codigo.	Haplogrupo	Primer	Secuencia (5"-3")	[] pmol/10uL	amplicon size (pb)
Múltiplex I					
rs2032624	R1	M173F1C	cCAAGGGCATTgAGAACC	3,75	150 (C)
		M173F2A	taatgtatTCAAGGGCATaTAGAACA	3,75	158 (A)
		M173R	CAGCCTTCAAAGCTTCTCCT	3,75	
rs8179021	Q	M242F1C	AAAGGTGACCAAGGTGCTC	2,81	131 (C)
		M242F2T	AacaatAAAGGTtACCAAGGTGCTT	3,75	137 (T)
		M242R	TCAGCATAATACCTTACCTAGAACAAC	2,81	
rs2032658	R	M207F1G	CgAGTCAAGCAAGcAATTTAG	5	124 (G)
		M207F2A	gttcacTAAGTCAAGCAAGAAATcTAA	10	118 (A)
		M207R	AAAAGCTGAAGGAAAAGTGGGA	5	
rs2032604	J2	M172F1G	AAACCCATTTgGATGCTTG	6,25	96 (G)
		M172F2T	ctaataAAACCCATTgTGATGCTTT	7,5	101 (T)
		M172R	TTAAATATCAGCCAGGTACAGAGA	6,25	
rs2032652	F (xK,Q,R)	M89R1	CgCAGGCAAAGTGAGAGATA	2	85 (T)
		M89R2	tttaaTCAGGCAAAGTGAGAGATG	2	89 (C)
		M89F	CACAGAAGGATGCTGCTCA	2	
rs3900	K(x Q,R)	M9F1G	GGCCTAAGATGGTTGgATG	3,75	70 (G)
		M9F2C	tttgGaCCTAAGATGGTTGAATC	3,75	74 (C)
		M9R	TGTAAGACATTGAACGTTTGgA	3,75	
Múltiplex II					
rs8179021	Q	M242F1C	AAAGGTGACCAAGGTGCTC	3,75	131 (C)
		M242F2T	aacaatAAAGGTtACCAAGGTGCTT	3,75	137 (T)
		M242R	TCAGCATAATACCTTACCTAGAACAAC	3,75	
rs3894	Q1a3a	M3R1T	cGTACCAGCTCTTCCcAATTA	2,5	115 (T)
		M3R2C	attttaaGTACCAGCTCTTCTTAATTG	2,5	121 (C)
		M3F	AAGGTACATTGCGGGGATA	2,5	
Y-position 2947155	Q1a3	M346R1G	cGCAATTTACAACgACAAGC	5	160 (G)
		M346R2C	aataatgtGCAATTTACAAAGACAAGG	5	167 (C)
		M346F	AAGGCCTGAAAATGTGGAAA	5	
Múltiplex III					
rs4116820	G2	P287F1G	TGACTGACATGGCgTTGG	10	149 (G)
		P287F2T	aaaatatatTGACTGACATtGCCTTGT	2.5	158 (T)
		P287R	AAGGGTAATGAAGCCTATAGTCCA	3,75	
rs9341296	I1	M253R1	TCAATGAAGAACCTGGAGAAA	6,25	132 (A)
		M253R2	ttattaTCAATGAAGAACCTGGAGAAG	2,5	138 (G)
		M253F	GCTGATCTGTTTCTTTTGGTG	2,5	

rs9341313	J1	M267F1G	ggTGGGAAGCATTTTgGTAAATAG	3,75	117 (G)
		M267F2T	taagcaTGGGAAGCATTTTGTAAATAT	3,75	121 (T)
		M267R	CGTAGCTcCAAGCAATCCAC	3,75	
rs13447378	G1	M285F1G	CcCATCATCTACATTTCTCCTG	2,5	80 (G)
		M285F2C	gtacaCTCATCATCTACATTTCTCCTC	2,5	85 (C)
		M285R	ATCGAATCCGCTATCCAGACT	2,5	
Single					
rs9786634	E	P152F1G	GCCcCATCCGTTTTCTGAAG	3,75	141 (G)
		P152F2C	ataaatGCTCATCCGTTTTCTGAAC	3,75	147 (C)
		P152R	TCTCaGGGTTTGTGCAGATT	3,75	
Múltiplex IV					
rs9786184	R1b	M343F1G	GAGTGCCaTCGTGTTCCAC	2,5	140 (C)
		M343F2A	attaaattAGTGaCCTCGTGTCCAA	2,5	147 (A)
		M343R	ATATGCAAATGCCAGCGTTA	2,5	
rs9785702	R1b1b	P297R1	GCCAAAGATGTATAAGcGGAAG	2,5	104 (C)
		P297R2	tctaaGCCAAAGATGTATAAGAGGAAC	2,5	109 (G)
		P297F	TGGGAGAGAGAGAGACAGGTG	2,5	
Y-position 21148755	R1a	SRY10831.2F1	AggTgAACCTTgAAAATgCTAC	2,5	76 (C)
		SRY10831.2F2	TCgATggTgAACCTTgTAAATgTTAT	2,5	72 (T)
		SRY10831.2R	CATgggATCATTCAgTATCTgg	2,5	
Y-position 13535789	R1b1c	M335R1	ATGCCCTTGAATTGTAAGcAAA	4.5	66 (A)
		M335R2	gattATGCCCTTGAATTGTAAGAAAT	4.5	62 (T)
		M335F	cCTGTAACCTCCTAGAAAATTGGAAA	4.5	

Anexo 5: Analisis de Escalamiento Multidimensional (MDS). Calculado a partir de las frecuencias obtenidas con los haplogrupos.



Anexo 6: Haplotipos del cromosoma Y encontrados de las poblaciones estudiadas

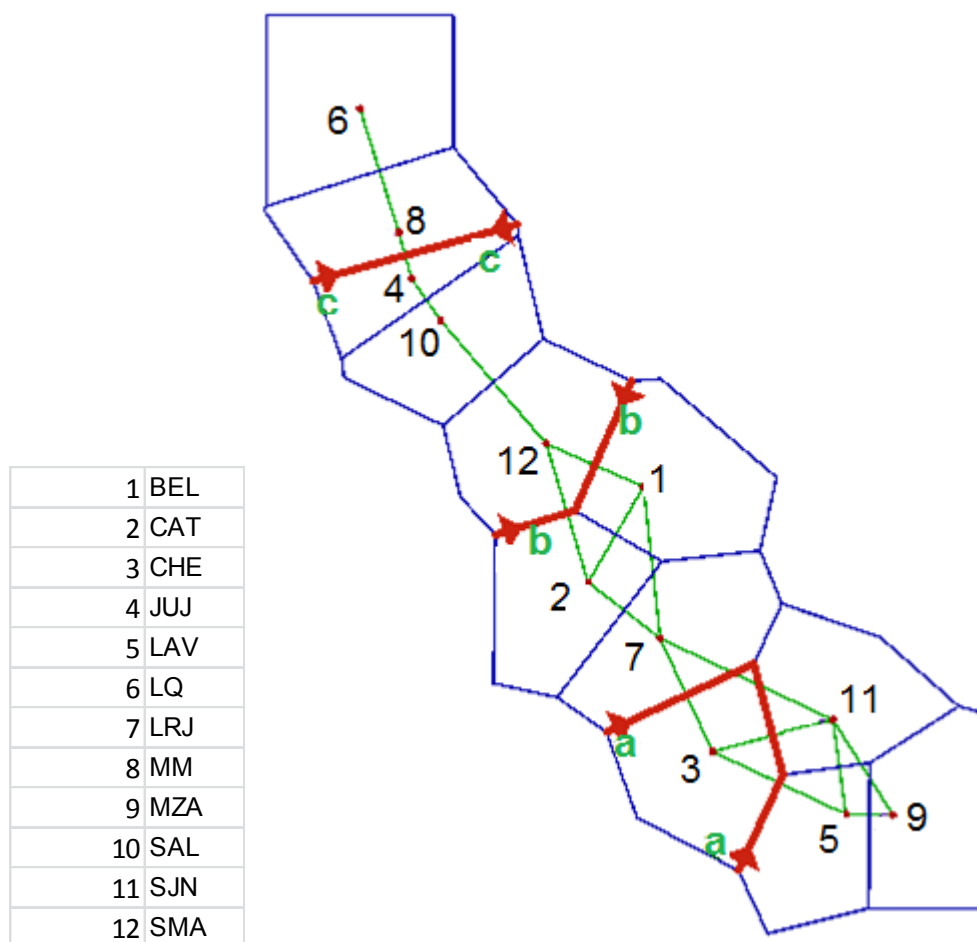
Alelos de cada uno de los marcadores analizados con el kit Yfiler																			Poblaciones															
	Hg	n	456	389I	390	389II	458	19	385a	385b	393	391	439	635	392	GATA	437	438	448	Belén	Catamarca	Chepes	Jujuy	Lavalle	La Quiaca	La Rioja	Maimará	Mendoza	Salta	San Juan	Santa María	Santiago del Estero	Malargüe	Aborígen
Hp001	Q1a2a1a1	1	15	14	23	31	16	13	15	18	14	10	12	22	16	11	14	11	20	1														
Hp002	Q1a2a1a1	1	15	14	24	31	19	13	14	14	13	10	12	22	14	13	14	11	20	1														
Hp003	Q1a2a1a1	1	15	14	24	31	17	13	14	16	14	10	11	23	14	12	14	11	19	1														
Hp004	Q1a2a1a1	1	15	13	24	30	17	13	14	16	13	9	13	23	14	12	14	13	20	1														
Hp005	Q1a2a1a1	1	17	14	25	30	18	13	13	18	13	10	12	22	15	11	14	10	20	1														
Hp006	Q1a2a1a1	1	17	13	25	29	17	13	15	18	13	11	11	23	14	12	14	12	20	1														
Hp007	Q1a2a1a1	1	15	13	24	29	15	13	14	16	14	10	11	23	14	12	14	11	19	1														
Hp008	Q1a2a1a1	1	15	12	24	29	16	13	16	17	13	10	12	22	14	11	14	11	21	1														
Hp009	Q1a2a1a1	2	16	13	24	31	16	14	15	18	13	11	10	26	14	13	14	11	20	1	1													
Hp010	Q1a2a1a1	2	15	13	25	29	16	13	16	17	13	10	11	22	12	11	14	11	19	2														
Hp011	Q1a2a1a1	1	15	14	23	30	16	13	15	18	14	10	13	22	15	12	14	11	20	1														
Hp012	Q1a2a1a1	1	15	14	23	?	16	13	18	18	14	10	13	?	15	12	14	?	20		1													
Hp013	Q1a2a1a1	2	15	13	25	29	16	14	14	16	13	10	12	22	14	12	14	11	19		1					1								
Hp014	Q1a2a1a1	1	15	14	24	31	16	13	15	19	14	10	13	22	16	?	14	11	20		1													
Hp015	Q1a2a1a1	1	16	13	23	30	16	13	14	17	13	10	11	22	14	12	14	11	20		1													
Hp016	Q1a2a1a1	1	15	13	23	32	15	13	15	17	?	10	11	22	15	13	15	10	20		1													
Hp017	Q1a2a1a1	1	15	13	23	31	18	14	14	16	13	10	12	23	14	11	15	11	20		1													
Hp018	Q1a2a1a1	1	14	13	21	30	17	13	14	18	13	11	12	24	15	12	15	11	20		1													
Hp019	Q1a2a1a1	1	15	14	23	31	16	13	15	19	14	10	13	22	16	11	14	11	20		1													
Hp020	Q1a2a1a1	1	15	14	23	32	15	13	15	18	14	10	14	22	16	12	14	11	20		1													
Hp021	Q1a2a1a1	1	18	13	24	30	18	13	14	15	13	10	11	22	14	12	14	11	20		1													
Hp022	Q1a2a1a1	1	15	13	24	31	15	13	15	18	13	10	11	22	13	12	14	12	20			1												
Hp023	Q1a2a1a1	1	15	14	25	31	20	13	14	19	13	10	11	22	15	11	14	11	19			1												
Hp024	Q1a2a1a1	1	15	14	22	30	18	13	16	18	13	10	12	22	15	10	14	11	19			1												
Hp025	Q1a2a1a1	1	15	13	24	29	18	14	12	14	13	11	11	23	13	12	15	12	19				1											

[illegible]

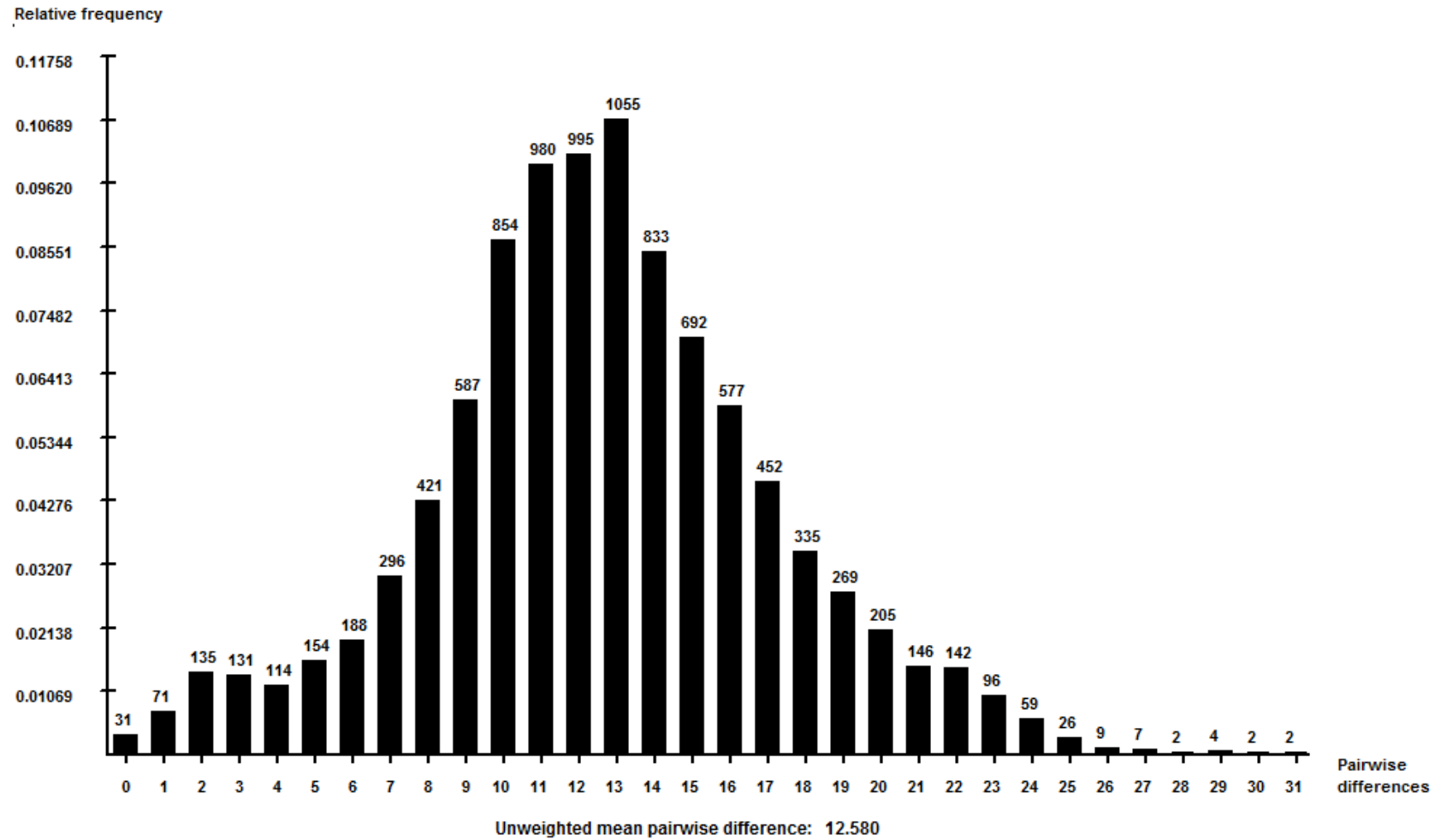
Hp098	Q1a2a1a1	1	15	12	23	30	15	13	14	17	13	10	13	22	14	10	14	11	20	1
Hp099	Q1a2a1a1	1	16	14	23	31	16	13	15	19	14	10	13	22	16	12	14	11	20	1
Hp100	Q1a2a1a1	1	15	13	25	29	19	13	15	17	14	10	11	22	14	12	14	?	20	1
Hp101	Q1a2a1a1	1	16	14	23	31	17	13	14	19	14	10	12	22	16	13	14	11	20	1
Hp102	Q1a2a1a1	1	16	12	24	30	16	13	14	14	12	10	14	23	15	12	14	11	20	1
Hp103	Q1a2a1a1	2	18	14	24	31	18	13	14	14	14	10	11	22	14	13	14	11	20	2
Hp104	Q1a2a1a1	1	15	14	23	31	16	13	16	19	14	10	13	22	16	12	14	11	20	1
Hp105	Q1a2a1a1	1	16	14	25	30	18	15	12	14	14	11	13	23	13	12	15	12	19	1
Hp106	Q1a2a1a1	1	16	13	26	29	17	13	15	21	13	11	12	22	14	10	14	11	19	1
Hp107	Q1a2a1a1	1	15	13	21	31	17	15	15	17	14	11	13	21	11	11	14	11	22	1
Hp108	Q1a2a1a1	1	15	12	24	30	18	13	15	17	13	10	12	22	?	11	14	11	21	1
Hp109	Q1a2a1a1	1	15	14	23	32	15	13	15	19	14	10	?	22	16	?	14	11	20	1
Hp110	Q1a2a1a1	1	16	13	25	31	18	13	14	18	13	10	11	23	14	11	14	11	20	1
Hp111	Q1a2a1a1	1	15	14	25	31	18	13	13	18	13	10	12	22	14	12	14	9	20	1
Hp112	Q1a2a1a1	1	15	13	24	29	?	13	14	14	13	10	12	22	14	13	14	11	20	1
Hp113	Q1a2a1a1	1	17	13	23	31	18	13	15	18	12	11	11	22	14	12	14	11	20	1
Hp114	Q1a2a1a1	1	16	13	24	29	17	13	14	19	13	10	11	22	14	11	14	11	19	1
Hp115	Q1a2a1a1	1	15	13	24	29	17	13	14	19	13	10	12	22	14	12	14	11	19	1
Hp116	Q1a2a1a1	1	15	14	25	31	18	13	14	19	13	10	?	22	14	12	14	9	20	1
Hp117	Q1a2a1a1	1	16	12	24	30	16	13	14	15	12	10	13	23	15	12	14	11	20	1
Hp118	Q1a2a1a1	1	15	14	25	31	16	13	15	18	14	10	12	22	16	12	14	11	20	1
Hp119	Q1a2a1a1	1	17	13	24	29	16	13	14	21	13	10	11	22	14	11	14	12	19	1
Hp120	Q1a2a1a1	1	16	13	24	30	16	13	16	19	13	10	11	22	14	11	14	11	19	1
Hp121	Q1a2a1a1	1	15	13	25	31	20	13	15	16	13	10	14	24	14	10	14	11	20	1
Hp122	Q1a2a1a1	1	14	14	23	31	17	13	14	18	13	10	12	22	14	11	14	11	19	1
Hp123	Q1a2a1a1	1	16	14	25	32	15	13	14	17	13	10	13	22	14	11	14	11	21	1
Hp124	Q1a2a1a1	1	17	13	23	32	17	14	13	13	13	10	11	28	14	13	15	11	19	1
Hp125	Q1a2a1a1	1	15	13	24	30	16	13	15	15	12	10	12	22	14	11	14	12	20	1
Hp126	Q1a2a1a1	1	15	14	21	31	21	14	14	17	13	10	13	22	14	11	14	11	21	1
Hp127	Q1a2a1a1	1	16	11	23	29	15	15	12	18	13	10	12	23	14	12	14	12	20	1
Hp128	Q1a2a1a1	1	15	13	22	28	17	13	15	16	13	10	11	22	15	10	14	11	20	1
Hp129	Q1a2a1a1	1	15	13	24	30	18	13	16	14	13	10	13	22	14	12	14	11	19	1
Hp130	Q1a2a1a1	1	15	14	24	30	17	14	11	14	13	11	12	23	13	12	15	12	19	1
Hp131	Q1a2a1a1	1	15	13	24	29	16	13	14	14	14	10	11	22	14	11	14	11	19	1
Hp132	Q1a2a1a1	1	15	14	23	31	16	13	15	18	14	10	15	22	16	12	14	11	20	1
Hp133	Q1a2a1a1	1	17	13	24	30	16	14	15	18	13	11	10	?	14	13	14	11	20	1

[illegible]

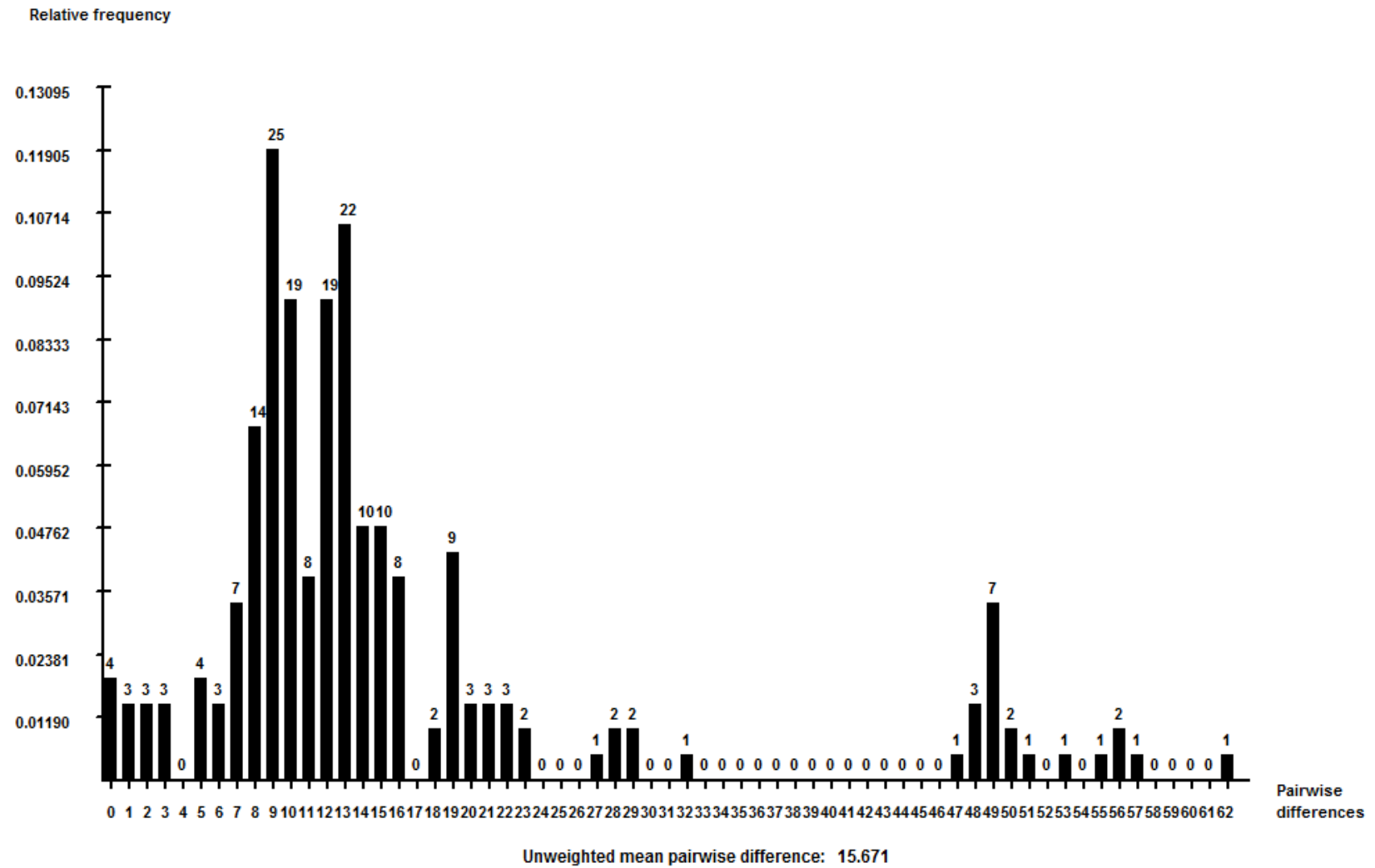
Anexo 7: Barreras genéticas identificadas con el programa Barrier 2.2. Considerando la localidad de Chepes.



Anexo 8: Distribución Mismatch del linaje Q1a2a1a1



Anexo 9: Distribución Mismatch del linaje Q1a2a1b



Contenido

.....	1
Agradecimientos.....	i
Resumen	vi
Abstrac	vii
1. Introducción.....	8
1.1 Naturaleza del cromosoma Y.....	9
1.2 El papel de los marcadores moleculares en la historia de las poblaciones humanas	10
1.2.1 Marcadores bialélicos	10
1.2.1.1 Construcción de la filogenia a partir de los SNPs.....	10
1.2.1.2 Filogeografía: Origen de los linajes	13
1.2.2 Microsatélites: buscando variabilidad dentro de los linajes.....	17
1.3 El cromosoma Y americano.....	18
1.4 Área geográfica	21
1.4.1 Noroeste y Cuyo argentino	21
1.4.2 Cultura y sociedad de las poblaciones argentinas	23
2. Materiales y Métodos.....	27
2.1 Muestreo y consideraciones éticas.....	27
2.2 Extracción de ADN	29
2.3 Tipificación de haplogrupos del Cromosoma Y	29
2.4.....	29
2.4.1 Diseño de los cebadores alelo-específicos	29
2.4.2 Amplificación de marcadores bialélicos del cromosoma Y	32
2.4.3 Polimorfismos de longitud de los productos de amplificación (APLP)	32
2.4.4 Estandarización de la técnica de amplificación alelo-especifica en múltiplex.....	35
2.5 Secuenciación	36

2.6	Alineamiento	41
2.7	Diferenciación de haplotipos	41
2.8	Métodos de análisis	42
3.	Resultados	46
3.1	Frecuencia de los haplogrupos del cromosoma Y	46
3.1.1	Distribución y frecuencia de los linajes.....	48
3.1.1.1	Haplogrupo E	48
3.1.1.2	Para-grupo K (xQR)	49
3.1.1.3	Para-grupo F	51
3.1.1.4	Haplogrupo R.....	52
3.1.1.5	Haplogrupo Q.....	54
3.2	Secuenciación	56
3.3	Estructura genética encontrada a partir de frecuencias de haplogrupos.....	58
3.4	Distancias genéticas encontradas a partir de la frecuencia de los haplogrupos	59
3.5	Haplotipos de microsatélites en linajes paternos nativos americanos	60
4.	Discusión	64
	Conclusiones	77
	REFERENCIAS	79
	Anexo 1: Aprobación comités de ética:.....	93
	Anexo 2: Consentimiento Informado	97
	Anexo 3: Encuesta genealogica	99
	Anexo 4: Oligonucleótidos empleados para el método de caracterización por APLP, agregados por grupos de múltiplex. En minúscula se indican bases y agregados 5' no complementarios	101
	Anexo 5: Analisis de Escalamiento Multidimensional (MDS). Calculado a partir de las frecuencias obtenidas con los haplogrupos.	103
	Anexo 6: Haplotipos del cromosoma Y encontrados de las poblaciones estudiadas ..	104

Anexo 7: Barreras genéticas identificadas con el programa Barrier 2.2. Considerando la localidad de Chepes.....	109
Anexo 8: Distribución Mismatch del linaje Q1a2a1a1	110
Anexo 9: Distribución Mismatch del linaje Q1a2a1b	111